

JUNIO DE 2015

ESTUDIO CINÉTICO DE LA BIODEGRADACIÓN DE VAPORES BTXS EN REACTORES “BATCH”: FUNDAMENTO PARA LA MEJORA DE LOS PROCESOS EN UN BIOFILTRO PERCOLADOR

UNIVERSIDAD DEL VALLE
ESCUELA DE INGENIERÍA DE LOS RECURSOS NATURALES Y DEL
AMBIENTE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL

SANDRA MARCELA LOZANO CAICEDO

**ESTUDIO CINÉTICO DE LA BIODEGRADACIÓN DE VAPORES BTXs EN
REACTORES “BATCH”: FUNDAMENTO PARA LA MEJORA DE LOS
PROCESOS EN UN BIOFILTRO PERCOLADOR**

Sandra Marcela Lozano Caicedo

**Universidad Del Valle
Escuela de Ingeniería de los Recursos Naturales y del Ambiente
Ingeniería Sanitaria y Ambiental
Santiago De Cali
2015**

**ESTUDIO CINÉTICO DE LA BIODEGRADACIÓN DE VAPORES BTXs EN
REACTORES “BATCH”: FUNDAMENTO PARA LA MEJORA DE LOS
PROCESOS EN UN BIOFILTRO PERCOLADOR**

Sandra Marcela Lozano Caicedo

Tesis para optar por el Título de Ingeniera Sanitaria y Ambiental

Director
Ph. D Juan Pablo Silva Vinasco
Codirector
MSc. Francisco Javier Caicedo Mesa

Universidad del Valle
Escuela de Ingeniería de los Recursos Naturales y del Ambiente
Ingeniería Sanitaria y Ambiental
Santiago De Cali
2015

A Dios, por darme fortaleza y conocimiento

A mi mamá Claudía, por su dedicación constante, por su gran amor y esfuerzo

A mi papá Carlos, por su ánimo por ser mi ejemplo

A mis hermanos Carlos y Ángela por el amor que nos mantiene juntos y por su apoyo

A Gabriela por llegar a iluminar nuestro camino

A Juan Pablo Herrera, porque llegaste a mi vida cuando más te necesitaba

A todos los amo, esto es por ustedes

AGRADECIMIENTOS

Para la realización del presente estudio se contó con la ayuda de un gran número de personas que directa o indirectamente brindaron su apoyo incondicional. Sin ellos no hubiera sido posible. Gracias, muy especialmente a:

Profesor Juan Pablo Silva, principalmente por confiar en mi, por su tiempo y paciencia. Tiene mi admiración como profesional siempre.

Profesor Francisco Caicedo, porque sin usted no hubiese sido posible, por escucharme, por su tiempo, por sus indicaciones, por las ideas, por las madrugadas y traspasadas. Gracias infinitas.

Al personal de laboratorio de control de contaminación atmosférica por la paciencia y la convivencia. A Daniel Melo, por su disposición siempre.

Al grupo de Biofiltración, Andrea y Diego por los momentos vividos en el laboratorio y por su ayuda cuando lo necesité.

Toda mi familia por su interés en la realización de mis sueños, por entender mi estrés todo este tiempo porque no tuve un compañero de tesis pero siempre conté con ustedes. Los amo

Juanpa, por tu comprensión todo el tiempo, porque entendiste que esto era importante para mí. Te adoro.

A los 10 por su ánimo siempre, por compartir todo esto. Lo logramos!

CONTENIDO

1	ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	17
2	OBJETIVOS.....	24
2.1	OBJETIVO GENERAL.....	24
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3	MARCO TEÓRICO.....	25
3.1	COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COVS).....	25
3.2	BENCENO, TOLUENO Y XILENO (BTXs).....	26
3.3	TECNOLOGÍAS PARA EL CONTROL DEL AIRE CONTAMINADO CON COVS.....	30
3.4	TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE GASES.....	34
3.4.1	Biofiltro.....	34
3.4.2	Biofiltros Percoladores.....	36
3.4.3	Biolavador.....	37
3.4.4	Bioreactores de Membrana.....	38
3.5	CINÉTICA MICROBIANA.....	39
3.5.1	Tasa de utilización de sustrato (coeficientes de producción).....	41
3.5.2	Tasa de crecimiento.....	42
	Tasa específica de utilización de sustrato.....	44
3.5.3	Cinéticas de Inhibición.....	44
4	METODOLOGÍA.....	47
4.1	UBICACIÓN DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	47
4.2	ADAPTACIÓN DEL INOCULO PARA EL ESTUDIO CINÉTICO.....	47
4.2.1	Caracterización del Lodo.....	47
4.2.2	Aclimatación del Inoculo.....	48
4.3	ESTUDIO CINÉTICO.....	52
4.3.1	Montaje Experimental.....	52
4.3.2	Estudio Cinético.....	54
4.4	ANÁLISIS DE DATOS Y EVALUACIÓN DEL MODELO CINÉTICO.....	56
5	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	60
5.1	CARACTERIZACIÓN DEL LODO.....	60
5.2	ACLIMATACIÓN DEL INOCULO.....	61
5.3	ESTUDIO CINÉTICO.....	66
5.3.1	Sustratos Individuales.....	66
5.3.1.1	Tolueno.....	66

5.3.1.2	Benceno	71
5.3.1.3	Xileno	75
5.3.1.4	Comparación del crecimiento en diferentes sustratos individuales.....	80
5.3.2	Mezclas.....	81
5.3.2.1	Mezcla BTXs con composición B(51%),T(22%), X(27%).....	81
5.3.2.2	Mezcla BTXs con composición B(21%),T(55%), X(24%).....	84
5.3.2.3	Mezcla BTXs con composición B(26%),T(22%), X(52%).....	86
5.3.2.4	Mezcla BTXs: EQUIMOLAR.....	89
5.3.2.5	Influencia de la interacción de los compuestos en la biodegradación de las mezclas de BTXs	91
5.3.2.6	Determinación del grado de interacción competitiva entre sustratos	96
5.3.3	Incidencia de los parámetros cinéticos encontrados en el diseño de un reactor a escala real.....	97
6	CONCLUSIONES	101
7	LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES	104
8	ANEXOS.....	106
8.1	PROTOCOLO DE “BRADFORD” PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA	106
8.1.1	Preparación Reactivo de “Bradford”	106
8.1.2	Curva de Calibrado.....	107
8.1.3	Preparación de diluciones de las muestras de inóculo	109
8.2	TÉCNICA DE “HEADSPACE”	110
8.3	CONCENTRACIONES MEDIDAS EN EL “HEADSPACE”	110
8.3.1	Fase aclimatación	110
8.3.2	Estudio cinético	111
9	REFERENCIAS	113

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estudios reportados en la literatura.....	20
Figura 2. Límites para la Aplicación de las Tecnologías. Fuente: (Cárdenas et al., 2003).	30
Figura 3. Cinética de crecimiento de Monod	43
Figura 4. Efecto de la concentración de sustrato sobre la relación tasa específica decrecimiento/tasa máxima, para diferentes valores de n , considerando que la constante de inhibición es $K_I=3 K_S$	46
Figura 5. Preparación del Inoculo.....	50
Figura 6. Montaje Experimental Aclimatación	50
Figura 7. Montaje Estudio Cinético.....	53
Figura 8. Porcentaje de Remoción de los contaminantes en el tiempo. Benceno , Tolueno , Xileno a. Reactor 1 b. Reactor 2 c. Reactor 3 d. Reactor 4. Dosis doble de contaminante	63
Figura 9. Comportamiento de los SSV y %remanente de los contaminantes en el tiempo. Benceno , tolueno , xileno , biomasa . Dosis doble de contaminante	65
Figura 10 . Evolución de $[C_7H_8]_0/\mu$ vs la concentración inicial del tolueno	67
Figura 11. Evolución de μ vs la concentración inicial de tolueno	68
Figura 12. Evolución de $[C_6H_6]_0/\mu$ vs la concentración inicial del benceno.	71
Figura 13. Evolución de μ vs la concentración inicial de benceno	72
Figura 14. Evolución de $[C_8H_{10}]_0/\mu$ vs la concentración inicial del xileno.	76
Figura 15. Evolución de μ vs la concentración inicial de xileno	77
Figura 16. Datos experimentales y ajuste modelo SKIP para la biomasa. Mezcla BTX: Benceno predominante	82
Figura 17. Datos experimentales y ajuste al modelo SKIP Sustratos. Mezcla BTX con benceno predominante. Benceno , Tolueno Xileno.....	82
Figura 18. Datos experimentales y ajuste modelo SKIP para la biomasa. Mezcla BTX: Tolueno predominante	84

Figura 19. Datos experimentales y ajuste al modelo SKIP Sustratos. Mezcla BTX con tolueno predominante. Benceno , Tolueno , Xileno.....	85
Figura 20. Datos experimentales y ajuste modelo SKIP para la biomasa. Mezcla BTX: Xileno predominante	87
Figura 21. Datos experimentales y ajuste al modelo SKIP Sustratos. Mezcla BTX con xileno predominante. Benceno Tolueno Xileno	87
Figura 22. Datos experimentales y ajuste modelo SKIP para la biomasa. Mezcla BTX equimolar.....	89
Figura 23. Datos experimentales y ajuste al modelo SKIP Sustratos. Mezcla BTX equimolar. Benceno , Tolueno , Xileno	90
Figura 24. Curva de Calibrado.....	109

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificación química de los BTX _____	27
Tabla 2. Propiedades Físicas y Químicas BTXs _____	28
Tabla 3. Riesgos Para la Salud BTXs _____	29
Tabla 4. Características de las Tecnologías de Tratamientos para COVs _____	31
Tabla 5. Cinéticas de crecimiento _____	43
Tabla 6. Tipos de inhibición _____	45
Tabla 7. Caracterización Lodo _____	48
Tabla 8. Composición Solución Nutritiva _____	49
Tabla 9. Dosis equimolares liquidas iniciales _____	52
Tabla 10. Variables del Experimento _____	54
Tabla 11. Diseño experimental estudio cinético _____	55
Tabla 12. Caracterización inicial del lodo _____	60
Tabla 13. Parámetros Cinéticos de la biodegradación del tolueno _____	69
Tabla 14. Parámetros cinéticos de biodegradación del benceno en la literatura _____	73
Tabla 15. Parámetros cinéticos de la biodegradación del xileno _____	78
Tabla 16. Resumen parámetros cinéticos encontrados por modelo más ajustado _____	80
Tabla 17. Correlaciones al modelo SKIP para benceno predominante _____	83
Tabla 18. Correlaciones al modelo SKIP para tolueno predominante _____	86
Tabla 19. Correlaciones al modelo SKIP para xileno predominante _____	88
Tabla 20. Correlaciones al modelo SKIP mezcla BTX equimolar _____	90
Tabla 21. Principales resultados del modelo de mezcla SKIP _____	91
Tabla 22. Resultados en la literatura para mezclas _____	94
Tabla 23. Comparación estadística entre los modelos _____	96
Tabla 24. Componentes Reactivo Bradford _____	107
Tabla 25. Preparación Curva de Calibrado _____	107
Tabla 26. Datos de absorbancia patrón de Albumina _____	108
Tabla 27. Concentraciones iniciales en el Headspace para la fase de aclimatación _____	110

Tabla 28. Concentraciones máximas en el Headspace alcanzadas en la aclimatación _____ 111

Tabla 29. Concentraciones iniciales en el Headspace para las 4 corridas realizadas _____ 111

RESUMEN

En la presente investigación, se estudia la cinética de eliminación de vapores Benceno, Tolueno y Xileno en reactores “batch”. Para tal propósito, se utilizó un lodo proveniente de la PTAR de la fundación Smurfit: Cartón de Colombia S.A. Inicialmente este lodo se caracterizó midiendo la concentración de sólidos totales, sólidos suspendidos volátiles, pH y cantidad de agua. Posteriormente, se aclimató en un periodo de 37 días dosificando e incrementando una mezcla equimolar de los contaminantes en líquido.

Se inoculó en reactores con un volumen de 250 mL, adicionando solución nutritiva. Para estudiar los sustratos individuales se utilizaron 3 reactores en duplicado (tolueno, benceno y xileno) y se hicieron 4 corridas con una duración de 11 horas cada una. La dosis inicial aplicada de cada contaminante se aumentó en cada corrida: 30 μL , 60 μL , 90 μL y 120 μL . En la corrida número 4, se trabajó con 4 reactores en duplicado adicionales donde se adicionaron mezclas diferentes de sustrato: equimolar, predominio de tolueno, predominio de benceno y predominio de xileno.

En cada reactor se estudió el cambio en la concentración en el tiempo de los contaminantes y de biomasa. Para los contaminantes se tomaron muestras gaseosas utilizando la técnica del “HEADSPACE”, y para la biomasa se utilizó el método de “Bradford” para cuantificación de proteínas.

Los resultados indicaron que los compuestos individuales se degradaron siguiendo una cinética que se ajustó más al modelo propuesto por Haldane que al modelo de Monod, esto atribuido a que la ecuación de Haldane tiene en cuenta el fenómeno de inhibición que se presenta al utilizar concentraciones altas de contaminantes como fueron las trabajadas en el presente estudio. Los parámetros cinéticos obtenidos μ^* , K_s y K_i permitieron reportar el tolueno como el compuesto más fácil y rápidamente biodegradable.

Por otro lado, las mezclas de BTX se ajustaron al modelo “SKIP”, del que se obtuvieron los parámetros de interacción entre los sustratos. Cuando se evaluaron las mezclas de BTX se concluyó que el tolueno disminuye su velocidad de degradación debido a la relación antagónica de toxicidad que representan para él, los otros dos compuestos.

INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica y sus efectos asociados son un producto de las diferentes comodidades modernas, desde los vehículos que se utilizan: motos, automóviles, aviones hasta los servicios en el hogar: electricidad, agua caliente. Muchas de las utilidades como la ropa y los medicamentos se obtienen de materiales sintéticos, otras como la pintura y detergentes a partir de solventes químicos, los cuales se derivan de procesos químicos que generan emisiones atmosféricas al ambiente. Infortunadamente, el deterioro de la calidad del aire se intensifica en las zonas urbanas, lugar donde se concentra gran parte de las actividades comerciales e industriales y una mayor cantidad población, que es susceptible a sufrir los mayores impactos en la salud por la contaminación atmosférica.

Los efectos principales del deterioro de la Calidad del Aire son en la salud. Al respecto la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2008) determinó que alrededor de un billón de personas se encuentran expuestas a la contaminación del aire en concentraciones que exceden las recomendadas y se estima que esta situación causa más de 7 millones de muertes prematuras al año en todo el mundo (Benitez, 2014). Hoy en día en Colombia, el 74% de la población identifica a la contaminación del aire como uno de los problemas más serios en el país además porque afecta directamente a la población de bajos recursos. Este fenómeno, genera aproximadamente 7400 nuevos casos de bronquitis crónica, 13000 hospitalizaciones por causa de enfermedad respiratoria crónica y 255000 visitas a salas de urgencia (Larsen, 2004).

Entre los contaminantes que afectan la salud de las personas en los ambientes urbanos y que adicionalmente son precursores del ozono troposférico se encuentran los Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs), los cuales provienen principalmente de fuentes industriales. Según información publicada por el IDEAM

(2012), los COVs son compuestos de interés mundial que por sus posibles efectos están monitoreados en Europa, Norteamérica, Centro y Sur América y Asia. Los principales efectos de los COVs son su papel como precursores de la formación de “smog” fotoquímico, al mezclarse con los óxidos de nitrógeno en presencia de luz solar, formando el ozono troposférico; y los relacionados con la salud causando a corto plazo irritación de los ojos y vías respiratorias, dolor de cabeza, mareos entre otros y lesiones de hígado, riñones y sistema nervioso central en el largo plazo (Rico, 2001).

Acorde con lo anterior, se ha hecho necesario desarrollar tecnologías de control de estas emisiones. Las tecnologías que se han utilizado tradicionalmente son basadas en procesos fisicoquímicos que se caracterizan por sus altos costos de operación y mantenimiento. Sin embargo, en la actualidad las alternativas de tipo biológico emergen como una solución potencial por sus ventajas sobre las alternativas tradicionales, ya que no generan productos residuales indeseables, son de bajo costo y flexibles en su operación (El-Naas et al., 2014).

Los biofiltros percoladores son biorreactores que representan una alternativa eficiente, sostenible y económica a los procesos fisicoquímicos para el filtrado de corrientes gaseosas contaminadas, han sido utilizados recientemente. Sin embargo, es necesario continuar la investigación de esta temática en el contexto Colombiano.

Para diseñar biofiltros percoladores tanto económicos como eficaces es importante una determinación precisa de la cinética de biodegradación de los contaminantes. Según Koutinas et al. (2011) la cantidad de estudios cinéticos que han realizado simulación de la biodegradación de BTXs con los contaminantes en mezcla (Chi-Wen et al. (2007), Abuhamed et al. (2004) Reardon et al. (2000), Deeb RA et al. (1999), Yoon et al. (1997)), es menor comparado con los realizados con BTXs como componente individual (Koutinas et al. (2011), Mathur et al. (2010), Trigueros et al. (2010), Li et al. (2006), Ellis et al. (1996)).

De esta manera, el presente estudio plantea estudiar la cinética de biodegradación de vapores de benceno, tolueno y xileno (BTXs) en reactores batch con miras a mejorar los procesos biológicos en biofiltros percoladores. Los resultados buscan establecer las constantes cinéticas y tasas de degradación de importancia para el diseño de un biofiltro percolador concebido para eliminar vapores de BTXs. Así, se contribuirá al desarrollo de una tecnología que a nivel de Colombia requiere conocerse para aplicarse a procesos industriales que generen emisiones de los compuestos gaseosos BTX.

1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Según IUPAC (2014), la contaminación atmosférica se define como la presencia de sustancias en la atmósfera en altas concentraciones en un tiempo determinado como resultado de actividades humanas o procesos naturales que pueden ocasionar daños a la salud de las personas o al ambiente. Las fuentes de contaminación atmosférica son diversas, estas se han clasificado de acuerdo a su origen en: naturales, las cuales han existido siempre en mayor o menor frecuencia y en antropogénicas, que son el resultado de las actividades humanas. (Rico, 2001)

La preocupación en torno al tema de la contaminación atmosférica se ha ido incrementando debido a la relación que se establece entre la presencia de contaminantes en la atmósfera y el aumento en la tasas de morbilidad e inclusive de mortalidad. Acorde con la OMS (2008) se estima que en el mundo suman 1,3 millones las personas que mueren en un año a causa de la contaminación atmosférica urbana; más de la mitad de esas defunciones ocurren en los países en desarrollo. La contaminación atmosférica aumenta el riesgo de padecer enfermedades respiratorias agudas, como la neumonía, y crónicas, como el cáncer del pulmón y las enfermedades cardiovasculares (OMS, 2008). Los impactos en la salud ocasionados por la contaminación atmosférica dependen de la exposición y pueden afectar de distintas formas a diferentes grupos de personas, además son dependientes del tipo de contaminante emitido, entre los que se destacan el monóxido de carbono, El dióxido de azufre, los óxidos de nitrógeno, las partículas en suspensión y los Compuestos Orgánicos Volátiles.

Los COVs, son contaminantes formados por carbono e hidrogeno, que llegan a la atmósfera como producto de diversos procesos industriales y de servicios, tales como fábricas siderurgicas, de plásticos y caucho, de calzado, , talleres de pintura, tintorerías, imprentas, plantas de reciclado de aceite, entre otros. Los COVs en

general son precursores del ozono. Sin embargo, cada especie de esta familia, presenta una reactividad atmosférica diferente (Ruiz et al., 1996). Los diversos efectos ocasionados por estos compuestos dependen principalmente de la concentración y tipo de COV, del tiempo de exposición y de las fluctuaciones temporales en las concentraciones de contaminantes, así como de la sensibilidad de los receptores y el sinergismo entre contaminantes(EPA, 2011).

Dentro de los COVs más abundantes, se encuentran, entre otros, los BTXs, estos son los mayores constituyentes de la gasolina(Potter, 1992) y además sirven como solventes industriales. Los BTXs se encuentran entre los 17 contaminantes químicos más peligrosos listados en el Inventario de Emisiones Tóxicas de la EPA. Adicionalmente estos compuestos son precursores de la formación de “smog” fotoquímico, al mezclarse con los óxidos de nitrógeno en presencia de luz solar, formando el ozono troposférico.

La exposición a largo plazo de estos contaminantes puede causar lesiones de hígado, riñones y sistema nervioso central, mientras que a corto plazo puede causar irritación de los ojos y vías respiratorias, dolor de cabeza, mareos, trastornos visuales, fatiga, pérdida de coordinación, reacciones alérgicas de la piel, náuseas y trastornos de memoria. Del benceno en particular se conoce que es un carcinogénico humano (EPA, 2011)

Debido a lo que implica la presencia de estos compuestos en la atmósfera es necesario controlar las emisiones de estos compuestos en las fuentes que los producen. En la actualidad, se han desarrollado dos sistemas principales para el tratamiento de aire contaminado con COVs: fisicoquímicos y tratamientos biológicos. Sin embargo los altos costos que representan las tecnologías tradicionales, oxidación térmica e incineración, han inducido una mayor utilización de los sistemas de tratamiento biológico, los cuales emergen como una alternativa más efectiva y de bajo costo según lo reportado por El-Naas et al., (2014). Estos tratamientos son considerados como tecnologías más limpias, por su menor uso

de energía y debido a que no requieren la adición de sustancias químicas reducen la generación de subproductos indeseables que puedan obtenerse durante el tratamiento (Revah & Ortiz, 2004)(Davidson & Daugulis, 2003)(Acuna et al., 1999)

Existen diferentes sistemas de tratamiento biológico como son los biofiltros, biolavadores, biofiltros percoladores, bioreactores de membrana, bioreactores con células suspendidas (Arriaga, 2006). Los biofiltros percoladores son los reactores biológicos más utilizados (Kennes & Veiga, 2001) para el tratamiento de BTX debido a que en estos se pueden tratar tanto compuestos hidrofílicos como hidrofóbicos, además, los costos de operación y mantenimiento son menores que los de otros reactores biológicos con otras configuraciones.

Los sistemas de tratamiento biológico se han utilizado para la remoción de mezclas de COV's, específicamente de benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX). Lu et al., (2000), estudiaron el rendimiento de un biofiltro percolador para una mezcla de BTEX obteniendo una eficiencia de remoción por encima el 90% para cada uno de los compuestos, cuando el reactor fue operado con cargas inferiores a $96 \text{ g.m}^3.\text{h}^{-1}$. Posteriormente Mathur et al. (2007), reportaron una eficiencia máxima de eliminación de más del 99% para la biofiltración con un medio de soporte compuesto por abono, bagazo de caña de azúcar y de carbono activado granulado de una mezcla con una concentración de 0.681 g/m^3 BTEX. En una investigación más reciente Rahul et al., (2013) hicieron seguimiento a la biofiltración de una mezcla de BTEX con una concentración de 0.09 g/m^3 utilizando maíz de mazorca como material de empaque obteniendo una eficiencia de 99.85%, lo anterior se resumen en la **Figura 1**.

Los sistemas de tratamientos biológicos de gases dependen de los microorganismos y de los procesos de biodegradación que estos llevan a cabo sobre los COVs. Por lo tanto estudiar y conocer los parámetros cinéticos es de suma importancia, pues estos son parte esencial en los modelos que describen y predicen el comportamiento de los biofiltros (Delhoménie et al., 2008). Estos

parámetros cinéticos, en muchos de los estudios realizados se toman de la literatura, sin embargo las condiciones experimentales pueden ser diferentes y los resultados pueden variar. De ahí la relevancia de su determinación experimental directa, como lo han realizado varias publicaciones.

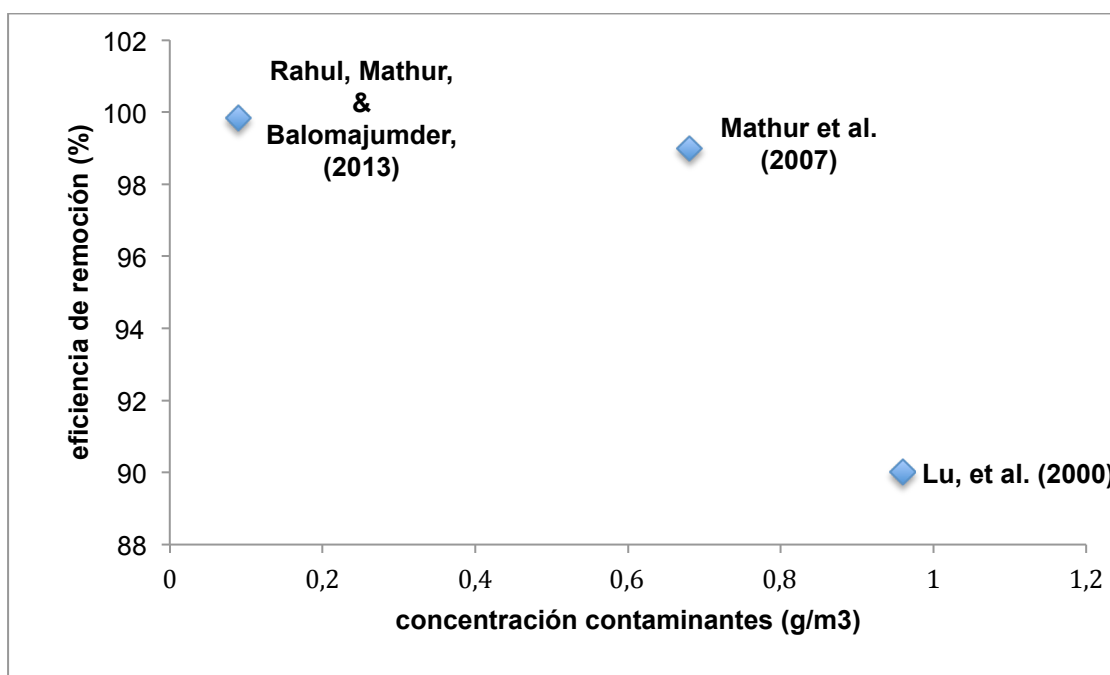


Figura 1. Estudios reportados en la literatura

En los tratamientos biológicos, las vías de degradación de los compuestos BTX en forma individual son bien conocidas y han sido estudiadas entre otros autores por Gibson & Subramanian (1984) y Smith (1990), . En cuanto al estudio de los parámetros cinéticos Acuna et al.(1999) investigaron los aspectos microbiológicos y cinéticos de un biofiltro con turba como medio de soporte e inoculado con un consorcio para remover vapores de tolueno. El arranque del biofiltro y la capacidad de eliminación se reprodujeron usando ensayos de microcosmos. La tasa de consumo en el microcosmo fue de $0.45h^{-1}$ y se midió el efecto de variaciones en las condiciones ambientales, obteniendo la tasa óptima a un pH 7 a 7.5, contenidos de agua por encima del 50% y una temperatura de 30°C. El aumento de la tasa en el tiempo reflejó la progresiva adaptación del consorcio.

Oh et al. 1994, estudiaron las interacciones existentes en las mezclas de BTX usando una mezcla de un consorcio microbiano y una cepa de *Pseudomonas*, inicialmente con benceno como sustrato, los microorganismos crecieron siguiendo una cinética de Monod (1949, 1950), en presencia de tolueno una cinética inhibitoria de Andrews (1968) pero ninguno pudo crecer usando el xileno como sustrato. La mezcla de benceno y tolueno se removió presentando una cinética de inhibición competitiva, la tasa de utilización de benceno se disminuyó por la presencia de tolueno. Chang et al. en 1993, encontraron resultados similares en la reducción del rendimiento de la degradación del benceno o del tolueno en presencia de xileno, como resultado de los productos metabólicos intermedios. Sin embargo, estos estudios difieren en que encuentran que la degradación del tolueno sigue la cinética de Monod, además uno de sus consorcios estudiados utilizó el xileno como sustrato para crecer.

Maliyekkal et al. (2004) experimentaron en un reactor tipo “batch” y encontraron mediante el modelo de inhibición de sustrato de Haldane (1930) los parámetros cinéticos. A partir de estos parámetros, evaluaron la capacidad de adaptación de 3 inóculos enriquecidos por separado con benceno (B), tolueno (T) y xileno (X) respectivamente. Posteriormente cada uno de los inóculos fue alimentado con una mezcla de BTX. Los resultados encontrados para las concentraciones inhibitorias para cada uno de los contaminantes fueron: 150 mg/L para benceno-xileno y 200 mg/L para tolueno. Demostraron que la adaptación de un compuesto más tóxico como benceno y xileno mejora la utilización de tolueno, esto se reflejó en la velocidad específica máxima de crecimiento ($\mu_{\text{máx}} \text{ h}^{-1}$) que fue mayor en los cultivos aclimatados con benceno (0.1311 h^{-1}) y con xileno (0.1229 h^{-1}) cuando la única fuente de carbono fue el tolueno.

Los estudios que se orientan al modelamiento matemático de la cinética de los sistemas con sustratos múltiples son todavía escasos en la literatura (El-Naas et al., 2014).

En cuanto a los métodos para la determinación de los parámetros cinéticos se han sugerido diferentes técnicas. El protocolo experimental convencional consiste en utilizar microorganismos suspendidos en un medio líquido (Jorio et al. 2005, Arcangeli & Arvin 1999, Acuna et al. 1999, Oh & Bartha 1997) , sin embargo Delhoménie et al., 2008 propuso un nuevo método que extrae la biomasa en muestras sólidas. Éste método presenta mayor facilidad en la operación y permite la reproducibilidad de los parámetros que representan el funcionamiento real de un biofiltro. La mayoría de los estudios se han realizado en reactores batch que permiten extrapolar los resultados obtenidos a los biofiltros. Respecto a la modelación la mayoría de los autores (Schwartz et al. 2001, Jorio et al. 2005, Arcangeli & Arvin 1999) han relacionado la biodegradación de los contaminantes con el crecimiento de la biomasa utilizando los enfoques micro cinéticos de Monod y Haldane.

Basados en lo anterior el presente proyecto se justifica en cuanto a:

- Un parte importante de la investigación para la utilización y optimización de los Biofiltros Percoladores, se ha centrado en observar su eficiencia global, sin detenerse a estudiar en detalle los procesos que ocurren especialmente a nivel microbiológico y han asumido que el crecimiento de biomasa y sus actividades en el biofiltro Percolador, son lentos comparados con otros fenómenos. Tan solo en los últimos años, las investigaciones se han centrado en el desarrollo de sistemas con un mejor control de los procesos, estudio de la cinética de degradación de los compuestos o al estudio de modelaciones matemáticas que permiten comprender mejor el sistema.
- El estudio cinético es importante pues permite entender los procesos microbiológicos que ocurren al interior del sistema, además su conocimiento ayuda a optimizar los diseños de los Biofiltros Percoladores. El presente trabajo aportará conocimiento de una alternativa tecnológica sostenible como

son los biofiltros percoladores, para el control de compuestos peligrosos y nocivos, COVs, contribuyendo a su desarrollo, pues complementa los aspectos microbiológicos que dan como resultado una mejora en el diseño de estos sistemas.

- El estudio de los parámetros cinéticos, para el seguimiento de los procesos que ocurren dentro de los Biofiltros Percoladores, aún debe investigarse, particularmente a nivel de Colombia. El proceso de introducción de los Biofiltros Percoladores en Colombia ha sido lento y poco estudiado (Jimenez & Villegas, 2005). Por lo tanto, es necesario fortalecer mediante la investigación, estas tecnologías que permitan proteger la salud de las personas y el ambiente de los efectos de los COVs; además, para que las fuentes generadoras de emisiones hagan un debido cumplimiento de la normatividad en cuanto a la calidad del aire, específicamente en Colombia, donde se ha generado una cantidad importante de controles y sanciones.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la cinética de la biodegradación de los compuestos orgánicos volátiles xileno, tolueno y benceno realizada por un consorcio microbiano en reactores tipo “batch”.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Establecer un protocolo para la adaptación de un consorcio microbiano en la biodegradación de BTX.

Estimar las constantes cinéticas que describen el crecimiento de biomasa en los reactores.

Determinar el modelo cinético que mejor se ajusta a la de biodegradación de BTX en un biorreactor.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (COVS)

Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) son definidos así por su alta presión de vapor de 10.2 kPa o más a 293.15 K (20°C), y por su temperatura de ebullición por debajo de unos 240 a 250°C a presión atmosférica. Sin embargo la diferenciación entre compuestos orgánicos volátiles y no volátiles no está generalmente establecida. Al ser compuesto orgánicos contienen moléculas de carbono y otras especies como Hidrogeno u Oxigeno. Es importante notar que los hidrocarburos y los COVs no son lo mismo. Aunque algunos hidrocarburos son en efecto COVs formados sólo por átomos de C y H, pero no todos los compuestos orgánicos volátiles son hidrocarburos(Kennes & Veiga, 2013).

Las principales fuentes de los COVs son las industrias, que representan alrededor del 50 % de las estimaciones de emisiones globales. Sin embargo, estos también se encuentran con frecuencia en el aire interior, presentes en la mayoría de pinturas, barnices, ceras, gomas, productos de limpieza y cosméticos, entre otros(Kennes & Veiga, 2013).



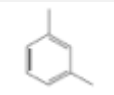

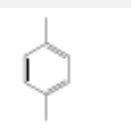
Los COV's constituyen una de las fracciones importantes del material particulado respirable. Estas especies orgánicas conocidas como no metánicas se agrupan principalmente en las siguientes tres familias de compuestos: alifáticas, aromáticas y heterocíclicas. Dado el peculiar carácter toxicológico que presentan estas especies orgánicas, los compuestos aromáticos son los que proyectan mayor atención de las tres familias, siendo benceno, sus derivados y las especies aromáticas poli cíclicas las que concitan mayor interés(Morales, 2006). Por otra parte, la mayoría de los COVs (algunos no presentan una significativa reactividad fotoquímica) participan en reacciones fotoquímicas en la atmósfera(Kennes & Veiga, 2013).

3.2 BENCENO, TOLUENO Y XILENO (BTXs)

En el caso de la serie derivada del benceno, con sustituyentes alquílicos, destacan tolueno y etilbenceno como los más simples de la serie, extendiéndose a los xilenos o dimetilbencenos en sus tres formas isoméricas. Estos compuestos son conocidos como el grupo de los BTXs y se les encuentra principalmente en la combustión del carbono, de la leña, del petróleo crudo y alquitrán. Está ampliamente descrito el efecto tóxico del benceno, a través de su conversión hepática en metabolitos que derivan a quinonas, como también su interacción con diversos metabolitos celulares, dando lugar a efectos genotóxicos con modificación del ADN (Morales, 2006).

Los BTXs son solventes industriales y se requieren con mucha frecuencia en las operaciones industriales. Según Maliyekkal et al. (2004), en estado tanto líquido como gaseoso estos compuestos en el medio ambiente plantean una amenaza significativa para la salud humana y el medio ambiente debido a sus propiedades tóxicas y cancerígenas. En la **Tabla 1** se presenta la identificación química de los BTXs.

Tabla 1. Identificación química de los BTX

Producto Químico	Sinónimos/ Código UN	Número CAS	Formula Estructural
Benceno	Hidruro de fenilo; pirobenzo. UN1114	71-43-2	
Tolueno	Metilbenceno; metilbenzol; fenilmetano UN1294	108-88-3	
m-Xileno	m-Dimetilbenceno; 1,3- dimetilbenceno; 1,3-xileno UN1307	108-38-3	
o-Xileno	o-Dimetilbenceno; 1,2- dimetilbenceno; o- metiltolueno; 1,2-xileno UN1307	95-47-6	
p-Xileno	p-Dimetilbenceno; 1,4- dimetilbenceno; p- metiltolueno; 1,4-xileno UN1307	106-42-3	

Fuente: Stellman & McCann, 1999

En la **Tabla 2** se muestran las propiedades físicas y químicas de los BTXs

P.E: Punto de ebullición

P.F Punto de fusión

P.M Peso Molecular

D.R Densidad Relativa

D.V.R Densidad de Vapor Relativa

P.V Presión de Vapor

P.I Punto de Ignición

Tabla 2. Propiedades Físicas y Químicas BTXs

	Color- Forma	P.E (°C)	P.F (°C)	P.M (g/mol)	Sol. Agua	D.R Agua	D.V.R (aire)	P.v (Kpa)	P.I (°C)
Ben.	Líquido transpar ente incoloro; prismas romboe dricas	80	5,5	78,11	Lig Soluble	0.8765	2,7	10	-11cc
Tol.	Líquido incoloro	111	-95	92,13	Insol.	0,866	3,2	2,9	4cc
m-Xil.	Líquido transpar ente e incoloro; móvil	139	-48	106,17	Insol.	0,8684	3,7	760m m Hg	27cc
o-Xil.	Líquido Incoloro	144	-25	106,16	Insol.	0,880	3,7	0,7	32cc
p-Xil.	placas o prismas	138, 3	13	106,2	Insol.	0.861	3,7	0,9	27cc

Fuente: Stellman & McCann, 1999

En la **Tabla 3** se muestran los riesgos para la salud de los BTXs

Tabla 3. Riesgos Para la Salud BTXs

Tarjetas Internacionales sobre la Seguridad de los Productos Químicos				
Producto Químico	Periodo corto de Exposición	Periodo Largo de Exposición	Vías de Exposición	Síntomas
Benceno	piel; tracto resp; pulmones; SNC	piel; sangre; hígado; sistema inmune	Inhalación Piel Ingestión	Mareo, sopor, cefalea, náuseas, disnea, dolor de garganta
Tolueno	ojos; tracto resp; pulmones;	piel; SNC ; corazón	Inhalación Piel Ojos	Mareo, sopor, cefalea, náuseas, inconsciencia Dolor abdominal,
m-Xileno	garganta, ojos; pulmones; SNC	piel; pulmones; SNC	Inhalación Piel Ojos Ingestión	Mareo, sopor, cefalea, inconsciencia Sequedad de piel, enrojecimiento Enrojecimiento, dolor
o-Xileno	garganta, ojos; pulmones; SNC	piel; pulmones ; SNC	Inhalación Piel Ojos Ingestión	Sequedad de piel, enrojecimiento Enrojecimiento, dolor Dolor abdominal, sensación de quemazón
p-Xileno	garganta, ojos; pulmones; SNC	piel; pulmones ; SNC	Inhalación Piel Ojos Ingestión	Mareo, sopor, cefalea, inconsciencia Sequedad de piel, enrojecimiento

3.3 TECNOLOGÍAS PARA EL CONTROL DEL AIRE CONTAMINADO CON COVS

Diversos tipos de tecnologías de tratamiento, se han desarrollado en la actualidad, como consecuencia de una preocupación generalizada por los daños directos que los COVs pueden tener tanto en la salud del ser humano como en la flora y fauna, además de las alteraciones en el medio ambiente y los impactos indirectos en la economía. Estas alternativas se dividen en dos grandes grupos: métodos fisicoquímicos y métodos biológicos. Dependiendo del caso estas tecnologías pueden combinarse con el objetivo de obtener mayores valores de eficiencia (Cárdenas, Revah, & Hernández, 2003).

La **Figura 2** que relaciona la velocidad de flujo de gas en m^3/h y la concentración de los contaminantes en g/m^3 permite establecer qué tipo de tecnología usar para el tratamiento del aire contaminado con COVs. De ella se puede determinar que en el caso de bajas concentraciones y altos caudales los tratamientos biológicos de gases son la mejor opción tecnológica.

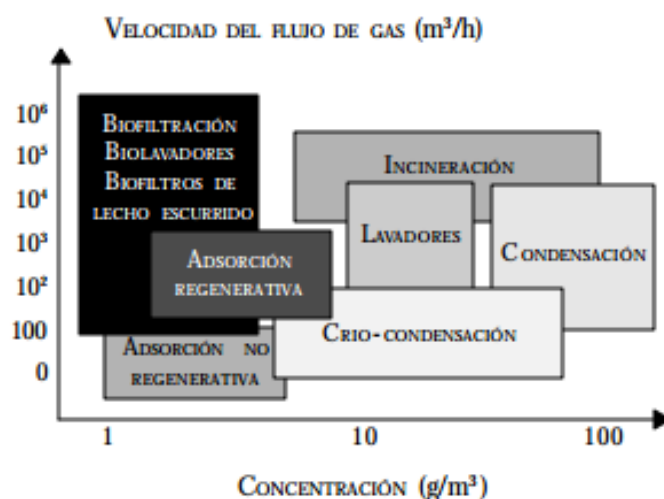


Figura 2. Límites para la Aplicación de las Tecnologías. Fuente: (Cárdenas et al., 2003).

En la Tabla 4 se observan las principales características de las tecnologías existentes.

Tabla 4. Características de las Tecnologías de Tratamientos para COVs

Tecnología	Principio y características	Desempeño y limitaciones	Costo/ (m³.h-1) aire
Adsorción	<p>Transferencia de VOC a una fase solida porosa, fija o fluidizada.</p> <p>Materiales: Carbón activado, zeolitas y polímeros.</p> <p>Instalación doble: Ciclos de adsorción-desorción.</p> <p>Temperatura de operación < 50-60°C</p> <p>Puede presentarse riesgo de ignición</p>	<p>Conversión: 90-99%</p> <p>Posible recuperación de COVs(Desorción)</p> <p>Puede aceptar variaciones de flujo y periodos de parada, pero...</p> <p>Tratamientos para regenerar el adsorbente</p> <p>Niveles de humedad de los efluentes < 50%.</p> <p>Caída de presión</p> <p>Envenenamiento del lecho con ciertos COVs</p>	<p>Inversión: US \$ 15-120</p> <p>Operación: US \$ 10-35</p>
Incineración	<p>Oxidación térmica de VOC.</p> <p>760 < Temperatura < 1200°C</p> <p>0.3 < Tiempo residencia < 2 s</p> <p>Concentración VOC < 25% límite de explosión</p> <p>Requiere nivel de O₂ ~ 10%</p>	<p>Conversión: 98-99.5%</p> <p>Posible recuperación de energía</p> <p>Eliminación de COVs halogenados con equipos adicionales, pero...</p> <p>Altos costos de inversión y operación</p> <p>Subproductos tóxicos: CO, NOX, dioxinas y furanos</p> <p>↓ eficiencia para bajas</p>	<p>Inversión: US \$ 10-450</p> <p>Operación: US \$ 20-150 (depende de la cantidad de energía recuperada)</p>

		concentraciones COVs	
Oxidación catalítica	<p>Oxidación térmica, catalítica de COVs</p> <p>$300 < \text{Temperatura} < 650^{\circ}\text{C}$</p> <p>$0.07 < \text{Tiempo residencia} < 1 \text{ s}$</p> <p>Catalizadores: Metales nobles (Pt, Pd, Rh) sobre soportes (alúmina, otras cerámicas) u óxidos metálicos (Cu, Ti, Ni, Mn, etc.)</p> <p>Tiempo de vida catalizador: 2-5 años.</p> <p>Concentraciones de trabajo: muy por debajo del límite de explosión.</p> <p>Requiere niveles de $\text{O}_2 \sim 2\%$</p>	<p>Conversión: 90-99%</p> <p>Requiere menos energía que la incineración y menos subproductos tóxicos, pero...</p> <p>Problemas de desactivación del catalizador (taponamiento, envenenamiento o sobrecalentamiento)</p> <p>Disposición del catalizador usado</p> <p>Subproductos de la combustión.</p>	<p>Inversión: US \$ 20-250</p> <p>Catalizador Fijo</p> <p>Operación: US \$ 10-75</p> <p>Catalizador Fluidizado</p> <p>Operación: US \$ 15-90</p>
Absorción	<p>Transferencia del COV a una fase líquida</p> <p>Torre de plato, columna de burbuja, torre empacada, atomizador.</p> <p>Solventes: Agua (pH ajustado), hidrocarburos de alto punto de ebullición, aminas, etc.</p> <p>Operación en contracorriente (↗ velocidad de transferencia de COVs)</p>	<p>Conversión: 90-98%</p> <p>Posible recuperación y valorización de los COVs disueltos con tratamientos aguas abajo, pero...</p> <p>Inadecuado para COVs de baja solubilidad</p> <p>Producción de aguas residuales</p>	<p>Inversión: US \$ 15-70</p> <p>Operación: US \$ 25-120</p>

Condensación	<p>Licuefacción de COVs con alto punto de ebullición ($>38^{\circ}\text{C}$) por medio de enfriamiento y/o compresión.</p> <p>Sistemas enfriamiento/crionogénico: Agua (5°C), Salmuera (-35°C), Nitrógeno Líquido (-185°C)</p>	<p>Conversión: 50-99%</p> <p>Una opción de recuperación y valorización de COVs, pero...</p> <p>Solo está bien adaptada a COVs saturados.</p> <p>Disposición de condensados.</p> <p>Problemas con los depósitos de escarcha.</p>	<p>Inversión: US \$ 10-80</p> <p>Operación: US \$ 20-120</p>
Membranas	<p>Separación de mezclas de gases por medio de membranas semipermeables.</p> <p>Materiales: Polímeros (fibras huecas, siliconas), cerámicas porosas.</p> <p>Flujo de gas comprimido antes de separación de la membrana.</p>	<p>Conversión: 50-98%</p> <p>COVs concentrados de 5 a 100 veces, posible valoración (reciclaje)</p> <p>Membrana selectiva resistente a COVs halogenados, pero...</p> <p>Caída considerable de presión</p> <p>Requiere limpieza de membrana.</p>	No disponible
Oxidación UV/Fotoquímica	<p>Oxidación completa mediante Oxidantes sobre oxigenados (O_3, H_2O_2)</p> <p>Posible utilización de foto catalizadores (TiO_2, Fe_xO_y, etc.)</p> <p>Temperatura de operación: Ambiente.</p>	<p>Conversión: 90-98%</p> <p>Costos de energía moderados, pero...</p> <p>Inadecuado para COVs halogenados.</p> <p>Depósito de los subproductos de oxidación sobre la superficie del catalizador</p> <p>Sistemas complejos</p>	No disponible

Bioteecnologías	<p>Oxidación biocatalítica de COVs</p> <p>3 configuraciones: biofiltros de lecho fijo (más comunes), biofiltros percoladores y biolavadores.</p> <p>Biocatalizadores: microorganismos (bacterias y hongos)</p> <p>0 <Tiempo residencia<varios minutos</p>	<p>Conversión: 50-95%</p> <p>Costos de operación e instalación moderados</p> <p>Poco mantenimiento, pero...</p> <p>Estricto control de los parámetros biológicos (pH, temperatura, humedad, nutrientes, etc.)</p> <p>Se requiere de espacios grandes</p>	<p>Inversión: US \$ 10-70</p> <p>Operación: US \$ 3-10</p>
------------------------	---	--	--

Fuente: M. C. Delhoménie & Heitz, 2005

3.4 TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE GASES

Los métodos Biológicos son eficientes para grandes volúmenes de aire con bajas concentraciones, pueden usarse tanto como para destruir los contaminantes como para bioconvertirlos en productos útiles. Según Arriaga (2006), el interés particular del uso de bioreactores es que no utilizan otro tipo de energía más que la capacidad de los microorganismos para metabolizar un variado rango de COVs. Los mecanismos básicos para la remoción de contaminantes en los reactores biológicos son similares, existen diferencias en el uso de microorganismos, medio de soporte, la concentración de contaminantes, etc. (Mudliar et al., 2010) Los principales reactores para el tratamiento biológico de aire son:

3.4.1 Biofiltro

Los Biofiltros son reactores en los cuales una corriente de aire contaminado pasa a través de un empaque de lecho poroso en el cual se encuentra inmovilizado un cultivo mixto de organismos que degradan los contaminantes. Generalmente la corriente de gases contaminante a través del medio de empaque, son transportados desde la fase gaseosa al biofilm microbiano (a través de la fase

liquida o humedad) y .la oxidación biológica de los COVs ocurre (Mudliar et al., 2010).

Los Biofiltros se utilizan para tratar una amplia variedad de contaminantes orgánicos e inorgánicos en corrientes de escape industriales y municipales. Tradicionalmente se han utilizado para el tratamiento de gases olorosos de las plantas de tratamiento de aguas residuales y plantas de compostaje, sin embargo también se han usado ampliamente en el tratamiento de varios compuestos orgánicos volátiles. Entre estos son odorantes tales como amoníaco, sulfuro de hidrógeno, mercaptano, disulfuros, etc., y compuestos orgánicos volátiles como propano, butano, estireno, fenoles, cloruro de etileno, metanol, etc. (Mudliar et al., 2010)

Estudios de banco y a escala piloto han demostrado que 60 de los 189 contaminantes peligrosos del aire (HAPs) pueden ser tratados con éxito con biofiltración (Mudliar et al., 2010). Los biofiltros en general tienen bajos costos operativos y de capital, con bajas caídas de presión y en los cuales no se producen corrientes de desechos secundarios. Sin embargo se puede presentar obstrucción del medio, lo cual puede deteriorarlo especialmente a altas concentraciones de contaminantes lo cual disminuye su eficiencia (Mudliar et al., 2010).

Existen dos configuraciones de biofiltros que se usan tradicionalmente. Por un lado están los biofiltros de diseño abierto, con flujos de gas ascendentes, instalados fuera de las unidades de generación de COVs. Estos reactores requieren grandes áreas, y también están expuestos a los cambios climáticos. Por otro lado los biofiltros con flujo ya sea ascendente o descendente de gas, instalados en recintos cerrados. Estos reactores requieren menos espacio que la configuración abierta (Mudliar et al., 2010).

3.4.2 Biofiltros Percoladores

El biofiltro Percolador desarrollado para el control de la contaminación del aire es de alguna manera similar al Biofiltro Percolador utilizado durante muchas décadas para el tratamiento de aguas residuales. La principal diferencia es que el contaminante está originalmente en la fase gaseosa en lugar de la fase líquida. Dado que todos los microorganismos necesitan algo de humedad y exhiben su actividad metabólica óptima en la fase acuosa, la transferencia de masa del contaminante de la fase gaseosa a la fase acuosa y al biofilm es un paso clave en el tratamiento de gases residuales en tales biorreactores(Kennes & Veiga, 2001).

Los Biofiltros Percoladores se usan principalmente para el tratamiento de los gases residuales emitidos desde los procesos industriales. Debido a su tamaño relativamente pequeño, no necesita mucho espacio, pero por lo general alcanzan remociones altas de contaminantes(Kennes & Veiga, 2001).

La principal diferencia entre el biofiltro percolador y el biofiltro convencional es que, en los primeros, una fase líquida (generalmente acuosa) se alimenta o recircula sobre el lecho, que no es el caso en los biofiltros convencionales. Esto permite un mejor control de parámetros tales como la acidificación del medio o la pérdida de humedad en el lecho, típico de los biofiltros convencionales pero que se evita fácilmente en los Biofiltros percoladores. Por otro lado, la humidificación del gas residual, que es necesario como un pre- tratamiento en los biofiltros convencionales, no es necesario en los biofiltros percoladores(Kennes & Veiga, 2001).

Sin embargo, otros pre-tratamientos utilizados en los biofiltros convencionales, tales como la retención de partículas, son de vital importancia en este caso con el fin de minimizar problemas de obstrucción. Los Biofiltros Percoladores son sistemas adecuados para contaminantes moderadamente solubles en agua. Su uso, se recomienda generalmente, para los contaminantes con un coeficiente de un Henry por debajo de 0,1. Los Biofiltros convencionales se pueden utilizar para

los compuestos más hidrofóbicos, con valores de H generalmente hasta a 1 o, a veces, más (Kennes & Veiga, 2001).

El rendimiento de los biofiltros Percoladores se basa en los mismos parámetros que para biofiltros convencionales, es decir, el tiempo de residencia considerando lecho vacío (RHE), velocidad de carga, capacidad de eliminación (CE), y la eficiencia de remoción (Kennes & Veiga, 2001).

3.4.3 Biolavador

Los Biolavadores se presentan como una mejora de los Biofiltros percoladores, intentando resolver dos problemas que se presentan en ellos: Mejorar la absorción del contaminante en el líquido y alargar el tiempo que los microorganismos tienen para consumir el contaminante. Se logra de dos maneras: la columna empacada se inunda con una fase líquida y el efluente de descarga del biolavador se recoge en un tanque de almacenamiento (sumidero) antes de ser reciclado de nuevo al biolavador (Darvin & Serageldin, 2003).

Inundar el lecho aumenta la capacidad de la fase líquida para absorber contaminantes, puesto que la fase gaseosa (emisiones) impacta el lecho formando pequeñas burbujas lo que aumenta en gran medida el área superficial de la interfase entre las fases gaseosa y líquida. Este aumento mejora la capacidad de la fase líquida para absorber contaminantes (Darvin & Serageldin, 2003).

El sumidero actúa como reservorio para la fase líquida y permite un tiempo de reacción adicional para que los microorganismos consuman los contaminantes. Los tiempos de reacción se pueden aumentar a una hora o más, dependiendo de la velocidad de recirculación de la fase líquida y el tamaño del sumidero. Esto aumenta el tiempo disponible para los microbios para fijar y destruir contaminantes (Darvin & Serageldin, 2003).

En los Biolavadores no es necesario humidificar las emisiones antes de su tratamiento, lo cual podría ahorrar el coste de la instalación de un proceso de

humidificación. El control del pH y la alimentación de nutrientes pueden ser automatizadas, por lo que requiere menos atención que otros biorreactores. Este proceso es ideal para las emisiones que producen ácidos y además puede tratar las emisiones que contengan partículas(Darvin & Serageldin, 2003).

Por otro lado presenta desventajas como sus costos, los biolavadores son considerablemente más costosos que otros biorreactores. Además, usa un producto químico lavador en el centro del proceso y se asemeja a los equipos de tratamientos químicos más que otros biorreactores. El biolavador puede taponarse por el crecimiento excesivo de biomasa, para controlar este crecimiento necesitar manipular compuestos tóxicos y peligrosos(Darvin & Serageldin, 2003).

3.4.4 Bioreactores de Membrana

A diferencia de los bioreactores ya caracterizados, el biorreactor de membrana permite la permeación selectiva del contaminante. La diferencia de concentración entre la fase gaseosa y la fase de biopelícula proporciona la fuerza motriz para la difusión a través de la membrana. La fuerza impulsora depende en gran medida del coeficiente de partición aire-agua del compuesto volátil. Para los compuestos con un alto coeficiente de partición la fuerza impulsora para la transferencia de masa es pequeña. La concentración en el líquido, que depende de la actividad de biodegradación de la población microbiana, también afecta la fuerza impulsora. La superficie de la membrana forma el área de contacto(Reij, Keurenties, & Hartmans, 1998).

Una ventaja del biorreactor de membrana sobre el BF es la presencia de una fase acuosa discreta permitiendo la humidificación óptima de la biomasa y la eliminación de los productos de degradación, evitando de esta manera la inactivación de la biomasa. En un biorreactor de membrana, la membrana sirve como la interfaz entre la fase gaseosa y la fase líquida(Reij et al., 1998).

En el biorreactor de membrana, la fase líquida está situado en el lado opuesto de la biopelícula y forma una barrera para la transferencia de masa de los contaminantes poco solubles en agua. Entre las ventajas de los biorreactores de membrana se identifican que no existen partes móviles y que es un proceso fácil de poner a escala en el que el flujo de gas y líquido se puede variar de forma independiente, sin problemas de las inundaciones o la formación de espuma por otro lado sus desventajas radican en sus altos costos de construcción y la posible obstrucción de los canales de líquido debido a la formación en exceso de biomasa (Mudliar et al., 2010).

3.5 CINÉTICA MICROBIANA

En la Cinética Microbiana, las reacciones se llevan a cabo directamente por células, ya sean animales o vegetales, presentan una mayor complejidad que la cinética enzimática al momento de encontrar un modelo cinético que la describa. Esto se debe a que los sustratos y los nutrientes tienen que pasar desde el medio a la superficie de las células y atravesar las membranas celulares e incorporarse a la masa celular donde a medida que se difunden pueden ir ya reaccionando en presencia de las enzimas intracelulares. A su vez, los productos formados tienen que seguir el camino inverso hacia la masa global del fluido. Intentar modelizar un proceso tan complejo resulta muy difícil y en el caso de plantearlo se precisaría la determinación de numerosos parámetros, algunos de ellos imposibles de estimar(Izquierdo, 2004).

De este modo, será necesario realizar una serie de hipótesis simplificativas con el fin de disponer de modelos suficientemente simples para poder utilizarlos en el diseño de Bioreactores. Entre las hipótesis relativas al conjunto de microorganismos que constituyen una población, se admite la no estructuración de las células en funciones diferentes, de tal modo que una variable pueda caracterizar su comportamiento (masa celular, número de células,...), y la uniformidad en la distribución de las células en el volumen considerado. Por otro

lado, algunas de las variables que pueden influir en el comportamiento de los microorganismos, como son la temperatura, la presión, el pH, la presencia de luz, suelen ser constantes o presentar variaciones mínimas poco significativas en un proceso determinado. Así, más concretamente, se suele admitir que sólo un reducido número de factores puede influir en el proceso y se les denomina factores limitantes, y, entre estos, destaca en numerosos procesos microbianos el sustrato(Izquierdo, 2004).

Cuando una pequeña cantidad de células vivas (inóculo) se añade a una solución de nutrientes (N, S, P, Na, K, Ca, etc.) y sustrato, en unas condiciones óptimas de temperatura y pH, se produce un proceso de crecimiento celular que se puede desglosar en las siguientes etapas(Izquierdo, 2004):

1. Inicialmente se produce un proceso de adaptación celular o fase de retraso en el que no hay crecimiento. Este periodo es tanto más largo cuanto más dispares son las nuevas condiciones en el que las células deben crecer respecto a las que tenían originalmente.
2. Terminado este periodo se produce una aceleración hasta producirse un crecimiento exponencial del número de células.
3. Al final de la fase exponencial se llega a una situación estacionaria de crecimiento nulo debido al agotamiento de sustrato, o de algún otro componente necesario para el crecimiento, o debido a la acumulación de productos inhibidores tóxicos para las células. La determinación de la causa del estacionamiento puede realizarse mediante una simple dilución del medio. Si la presencia de la fase estacionaria se debe a la falta de sustrato, la dilución no altera la situación. Contrariamente, si el proceso es debido a la acumulación de una toxina, la dilución permitirá un posterior crecimiento.

4. Finalizada esta etapa se produce la fase de muerte de las células. Esta fase no suele ser interesante, ya que los procesos industriales se suelen diseñar lejos de las condiciones en las que tiene lugar(Izquierdo, 2004).

3.5.1 Tasa de utilización de sustrato (coeficientes de producción)

El crecimiento celular engloba la conversión metabólica de un sustrato en sus productos, lo que hace que se libere energía en forma de ATP (ruta catabólica), que será utilizada para la síntesis celular (ruta anabólica).

Catabolismo: Sustratos → Productos + Energía

Anabolismo: Sustrato+ Energía +Nutrientes → Masa Celular

Resultado Global: Sustrato + Nutrientes → Masa Celular + Productos (Zamora, 2009). La cantidad de masa celular, o biomasa formada, es proporcional a la cantidad de sustrato y de producto. Se puede definir un coeficiente para cada tipo de bacterias, llamado coeficiente de producción, Y, que puede determinarse experimentalmente(Chavez, 2004):

$$\text{Producción de Biomasa: } Y_{x,s} = \frac{\Delta X}{\Delta S}$$

Ecuación 1

$$\text{Producción de producto: } Y_{p,s} = \frac{\Delta P}{\Delta S}$$

donde S: Sustrato, Y: coeficiente de producción, X: Biomasa y P: Producto.

El crecimiento de la población de microorganismos se puede asociar al consumo de sustrato mediante el uso del coeficiente de producción(Chavez, 2004):

$$\frac{dX}{dt} = Y_{x,s} \frac{dS}{dt} - bX$$

Ecuación 2

Donde bX es un término que refleja la lisis bacteriana, habiéndose asociado, también, con el concepto de energía de mantenimiento, o energía utilizada no para el crecimiento sino para el mantenimiento de los microorganismos (respiración).

3.5.2 Tasa de crecimiento

En condiciones ideales, el crecimiento de las poblaciones bacterianas sigue un crecimiento exponencial en el tiempo. La función de la concentración de la población bacteriana en el tiempo, está dada por la **Ecuación 3** (González, 2013)

$$X = X_{(t=0)} e^{(\mu-b)t}$$

Ecuación 3

Donde X: Biomasa μ : Tasa de crecimiento específica b: lisis bacteriana t: tiempo

En la práctica existen limitaciones al crecimiento, dadas por ejemplo, por la limitación del sustrato disponible o por la presencia de tóxicos. La concentración de sustrato disponible limita la velocidad de crecimiento de las poblaciones bacterianas. La forma de simular esta influencia ha sido objeto de controversia, siendo diferente en función de las condiciones y del grupo de microorganismos. En general se acepta que se cumple la cinética de Monod (1950), quien propuso una expresión similar a la ecuación de Michaelis-Menten de velocidad de reacción enzimática (González, 2013):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{S + K_S}$$

Ecuación 4

Donde μ : tasa de crecimiento específica; μ_{\max} : tasa máxima de crecimiento específica; S: concentración de sustrato; K_S : constante de saturación.

La dependencia de la velocidad de crecimiento específica (μ) del sustrato es de forma que si la cantidad de sustrato es muy grande la tasa específica se aproxima al valor máximo y si la concentración del sustrato tiende a cero, se aproxima a cero (**Figura 3**) (Bertola & Contreras, 2007). Otras funciones del sustrato se han considerado para simular la cinética de crecimiento de microorganismos anaerobios, tal y como se muestra en la **Figura 3**.

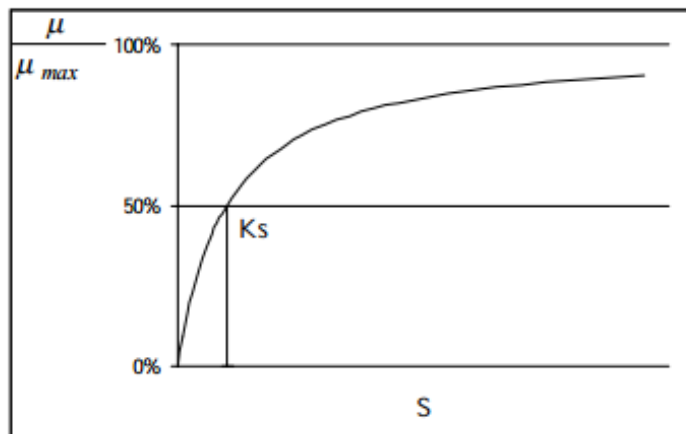


Figura 3. Cinética de crecimiento de Monod

En la **Tabla 5** se presentan las diferentes cinéticas de crecimiento expuestas por diversos autores.

Tabla 5. Cinéticas de crecimiento

Tipo de Cinética	Desaparición de sustrato en el tiempo	μ
Primer Orden	$k * S$	$\frac{kS}{S_o - S}$
Grau <i>et al.</i> (1975)	$\frac{\mu_{m\acute{a}x}}{Y} \frac{S}{S_o} X$	$\mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{S_o}$
Monod (1950)	$\frac{\mu_{m\acute{a}x}}{Y} \frac{S}{k_s + S} X$	$\mu_{m\acute{a}x} * \frac{S}{k_s + S}$
Contois (1959)	$\frac{\mu_{m\acute{a}x}}{Y} \frac{S}{BX + S} X$	$\mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{BX + S}$
Chen y Hashimoto (1978)	$\mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{KX + YS} X$	$\mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{KS_o + (1 - k)^s}$

Fuente:Pavlostathis & Giraldo, 1991.

Donde: S_0 :concentración inicial de sustrato, K_s : Constante de saturación

Sobre la base de la cinética de Monod se pueden introducir nuevas modificaciones, por ejemplo para el caso de la existencia de varios sustratos limitantes, mediante términos tipo Monod multiplicativos. Así sí se consideran dos sustratos limitantes, S_1 y S_2 se obtiene la ecuación 5.

$$\mu = \mu_m \frac{S_1}{S_1 + K_{S1}} \frac{S_2}{S_2 + K_{S2}} \quad \text{Ecuación 5}$$

Tasa específica de utilización de sustrato

La variación de sustrato en el tiempo por unidad de biomasa se define con la ecuación 6

$$U = \frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = \frac{\mu}{Y} \quad \text{Ecuación 6}$$

3.5.3 Cinéticas de Inhibición

La presencia de un compuesto tóxico para los microorganismos se refleja en una menor tasa de crecimiento de los mismos. No todos los microorganismos se ven afectados de la misma forma por los mismos compuestos. Se dice que hay tres tipos básicos de inhibición, en función de la reversibilidad y del parámetro cinético al que afecta.

Los modelos de inhibición competitiva aplican cuando dos o mas compuestos sirven como sustrato y los compuestos pueden degradarse simultáneamente con competencia. Mientras que los modelos de inhibición no competitiva describen el procesos cuando dos o más sustratos son simultáneamente unidos a una enzima formando un complejo no reactivo. El modelo de inhibición acompetitiva se usa cuando solo el sustrato inhibitorio se une al complejo enzima-sustrato y no a la enzima libre(EI-Naas et al., 2014).

En la **Tabla 6** se muestran las ecuaciones de los diferentes tipos de inhibición que afectan a la velocidad de crecimiento específica. En todos los casos, K_i es la constante de inhibición y I la concentración del compuesto inhibidor.

Tabla 6. Tipos de inhibición

	Parámetro Afectado	Expresión de la Cinética
Inhibición no competitiva	Tasa máxima de crecimiento	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} * \frac{K_i}{K_i + I}$
Inhibición competitiva	Constante de saturación	$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s \left(1 + \frac{1}{K_i}\right) + S}$
Inhibición acompetitiva	Tasa máxima y constante de saturación	$\mu = \frac{\mu_{max}}{\left(1 + \frac{K_s}{S} + \frac{I}{K_i}\right)}$

Fuente: Pavlostathis & Giraldo, 1991

A través de las constantes “biocinéticas” de la ecuación de Monod para la tasa de crecimiento específico y de utilización de substrato, se puede ajustar el modelo para tener en cuenta los factores inhibidores. Lo más común es que sea la velocidad de crecimiento específica μ la variable afectada, aunque algunas sustancias pueden afectar al coeficiente de producción o a la tasa de lisis (Pavlostathis & Giraldo, 1991)

La expresión de la inhibición acompetitiva se denomina, también, cinética de Haldane, y ha sido utilizada para expresar la inhibición por el propio substrato (S) o por el producto (P) (Andrews & Graef, 1971).

También se utiliza la llamada “ecuación de Haldane generalizada”.

$$\mu = \frac{\mu_{max}}{1 + \frac{K_s}{S} + \left(\frac{S}{K_i}\right)^n}$$

Ecuación 7

Dónde n es el orden de inhibición. Con estos tipos de expresiones, hay un valor de concentración de sustrato para el que la tasa de crecimiento es máxima **Figura 4**

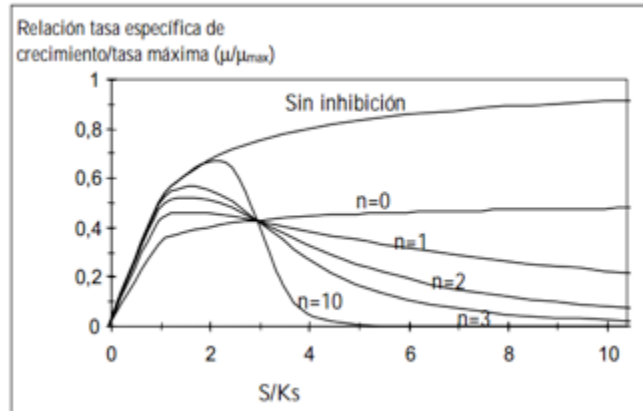


Figura 4. Efecto de la concentración de sustrato sobre la relación tasa específica de crecimiento/tasa máxima, para diferentes valores de n , considerando que la constante de inhibición es $K_i=3K_s$

Cuando el tipo de interacción entre sustratos no está especificada, entonces un modelo alternativo puede aplicarse, este modelo es conocido como “SKIP” (sum kinetics with interaction parameters) y fue formulado por Yoon et al. (1977).

El modelo describe matemáticamente un ajuste a las interacciones no específicas entre los sustratos incorporando el parámetro de interacción $I_{1,2}$. Este parámetro indica que tanto afecta la biodegradación del sustrato “2” la presencia del sustrato “1”. Valores altos del parámetro indican un grado alto de afectación. Esto Lo describe la **Ecuación 8** (Littlejohns & Daugulis, 2008).

$$\mu = \frac{\mu_{max1}S_1}{K_{s1} + S_1 + (I_{2,1})S_2} + \frac{\mu_{max2}S_2}{K_{s2} + S_2 + (I_{1,2})S_1} \quad \text{Ecuación 8}$$

4 METODOLOGÍA

4.1 UBICACIÓN DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para el desarrollo de la investigación se usaron las instalaciones de la Universidad del Valle, sede Meléndez, específicamente del laboratorio de Control de la Contaminación Atmosférica y de Química Ambiental, ambos situados en la ciudad Santiago de Cali (Valle del Cauca, Colombia). Esta ciudad se ubica a 1004 msnm, con posición geográfica de 3°26'24" de latitud norte y 76°31'11" de longitud oeste; las condiciones predominantes son las de clima cálido con temperatura promedio de 25°C, humedad relativa entre 72 y 77 % y una presión barométrica promedio de 90500 Pa (IDEAM, 2014).

4.2 ADAPTACIÓN DEL INOCULO PARA EL ESTUDIO CINÉTICO

4.2.1 Caracterización del Lodo

El lodo utilizado en el presente estudio proviene de la laguna de oxidación del sistema de tratamiento de aguas residuales de la Fundación Smurfit: Cartón de Colombia S.A. Este lodo se seleccionó ya que caracterizaciones previas en años anteriores indican que tiene una actividad biológica importante y una gran variedad de microorganismos que con las condiciones adecuadas de pH, temperatura y nutrientes pueden ser susceptibles a adaptarse a los BTX compuestos objeto de este estudio (Ochoa de Alda, 2008; Esparza, 2004; Scott, 1995).

El lodo se recolectó de la parte central y de las orillas de la laguna utilizando dos frascos de vidrio. Los frascos se transportaron en neveras de icopor hasta la Universidad del Valle, una vez ahí, se mantuvieron en el cuarto frío hasta el día siguiente cuando se realizó su caracterización. La caracterización del lodo se realizó acorde con lo establecido en el protocolo de métodos de análisis para suelos y lodos (Zagal & Sadzawka, 2007). Los principales parámetros medidos fueron la cantidad de agua, sólidos totales, sólidos suspendidos volátiles y pH.

En la **Tabla 7** se muestran las características que se determinaron del lodo, el método analítico que se usó para obtenerlas y los equipos utilizados.

Tabla 7. Caracterización Lodo

Característica	Método	Equipos y Materiales
Agua y Sólidos Totales	Secado a $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ (Zagal & Sadzawka, 2007)	-Estufa para secado -Recipientes de metal o vidrio con tapa hermética, -Desecador -Balanza de precisión
Sólidos Suspendidos Volátiles	Calcinación por 30 minutos a 550°C (Zagal & Sadzawka, 2007)	-Mufla que permita operar a 550°C . -Desecador
pH	Suspensión y determinación Potencio métrica (Zagal & Sadzawka, 2007)	-Agitador -Medidor de pH -Electrodos de vidrio y de referencia o electrodo combinado. -Termómetro. -Recipientes de vidrio o plástico de al menos 100 mL de capacidad.

4.2.2 Aclimatación del Inoculo

Una vez caracterizado el lodo se inició la etapa de aclimatación del inoculo a los sustratos en estudio (BTX). La aclimatación del inoculo consistió en los siguientes pasos secuenciales: (i) preparación del inoculo (ii) aclimatación del inoculo (iii) seguimiento del proceso de aclimatación.

(i) Preparación del inóculo

El lodo recolectado de ambas partes de la laguna se mezcló hasta homogenización. De esta mezcla se tomaron 2 L de lodo y se le adicionaron 5 L de solución nutritiva previamente preparada (Tabla 8) acorde con lo sugerido por estudios previos (Caicedo & Guerrero, 2011; Trejo, 2001), obteniéndose finalmente un volumen de 7 L de inóculo. Posteriormente, este inóculo, se distribuyó en partes iguales en dos reactores de 5 L de capacidad, con el fin de obtener una concentración de 0,9% de sólidos totales. Finalmente, el lodo en los reactores se dejó en aireación por un tiempo de dos días. El aire se suministró utilizando una bomba marca Resun y fue dosificado por la parte superior de los reactores a través de mangueras de plástico flexible (figura 5)

Tabla 8. Composición de la solución nutritiva

MACRONUTRIENTES		ELEMENTOS TRAZA	
Reactivo	g/L	Reactivo	g/100mL
NH₄NO₃	1.630	ZnSO₄7H₂O	0.144
KH₂PO₄	0.600	MnSO₄H₂O	0.840
K₂HPO₄	2.400	CuSO₄5H₂O	0.025
MgSO₄7H₂O	1.500	CoCl₂6H₂O	0.026
CaSO₄2H₂O	0.150	H₃BO₃	0.0062
EDTA	0.038	NiCL₂6H₂O	0.009
FeCL₂4H₂O	0.027	Na₂MoO₄2H₂O	0.049
Solución Mineral	5 mL		



Figura 5. Preparación del Inoculo

(ii)Aclimatación

El inoculo se aclimató acorde con el montaje experimental indicado en la figura 6. Inicialmente, todo el inoculo preparado anteriormente (Figura 5) se dispuso en un recipiente plástico con una capacidad de 10 L donde se le adicionaron 200 mL de solución nutritiva (**Tabla 8**). El total del inoculo homogeneizado (7,2 L) se distribuyó en partes iguales (1,8 L) en cuatro erlenmeyers de vidrio con una capacidad de 3 litros cada uno.



Figura 6. Montaje Experimental Aclimatación

Una vez se inocularon los reactores, de cada uno de ellos se tomó una muestra de 20 mL para medir la concentración de SSV, equivalente a la concentración de biomasa en el tiempo cero. La determinación de SSV se hizo siguiendo el protocolo reportado en métodos de análisis para suelos y lodos (Zagal & Sadzawka, 2007). Es importante aclarar que la medición de SSV se alternó entre los reactores comenzando en el rotulado con el número 1, luego con el 2 y así sucesivamente. Esto último impidió la perturbación del sistema al tomar la muestra.

Posterior a la toma de la muestra de biomasa se adicionaron a los reactores, mediante una jeringa de 50 unidades (0,5 mL), una fuente de carbono consistente en una mezcla equimolar de 20 microlitros (μL) de los contaminantes en fase líquida (BTX). Después de esta adición se agitó la mezcla y se tomó una muestra gaseosa para determinar la concentración en el tiempo cero de los BTX, la cuál se analizó utilizando la técnica del “headspace” (ver anexo 8.2). Las concentraciones obtenidas en el “headspace” se reportan en el anexo 8.3.1.

(iii) Seguimiento del proceso de aclimatación.

El proceso de aclimatación tuvo una duración de 37 días y consistió en incrementar gradualmente las dosis de BTXs en el reactor hasta alcanzar el estado estacionario, condición que indica que el inóculo se ha aclimatado. Las cantidades de BTX adicionadas se reportan en la tabla 9.

Durante la operación se tomaron muestras diarias para determinar la concentración de biomasa y de BTXs en los reactores determinadas acorde con los métodos descritos anteriormente en la sección de preparación del inóculo. Cada 7 días se detuvieron los agitadores, se dejó sedimentar el lodo, se retiró el sobrenadante y se repuso solución nutritiva (**Tabla 8**).

Tabla 9. Dosis equimolares líquidas iniciales

Periodo (días)	Dosis equimolar BTXs (μL)
1-15	20
16-22	40
23-30	80
30-37	160

Adicionalmente, para controlar las condiciones en las que se mantenía el inóculo en los 4 reactores se midió diariamente el pH y la temperatura. Durante el experimento se aseguró una mezcla completa manteniendo agitados los reactores, tal como se observa en la **Figura 6**

4.3 ESTUDIO CINÉTICO

4.3.1 Montaje Experimental

El estudio cinético se llevó a cabo en botellas de 250 mL referencia: EL 3222A (Distribuidora Córdoba). Las botellas se cerraron herméticamente con tapones de caucho y se reforzaron con teflón lo que evitó un escape significativo de los gases. En los tapones se adecuó una manguera con una llave de 3 vías que permitió la toma de muestras de biomasa mediante una jeringa. Por otro lado también se instaló un sistema de alivio de presión para el momento de tomar las muestras en el “headspace”. Acorde con el diseño experimental se utilizaron un total de 16 reactores (botellas adecuadas). En la **Figura 7** se muestra el montaje para el estudio cinético junto con un esquema que especifica los detalles del muestreo.

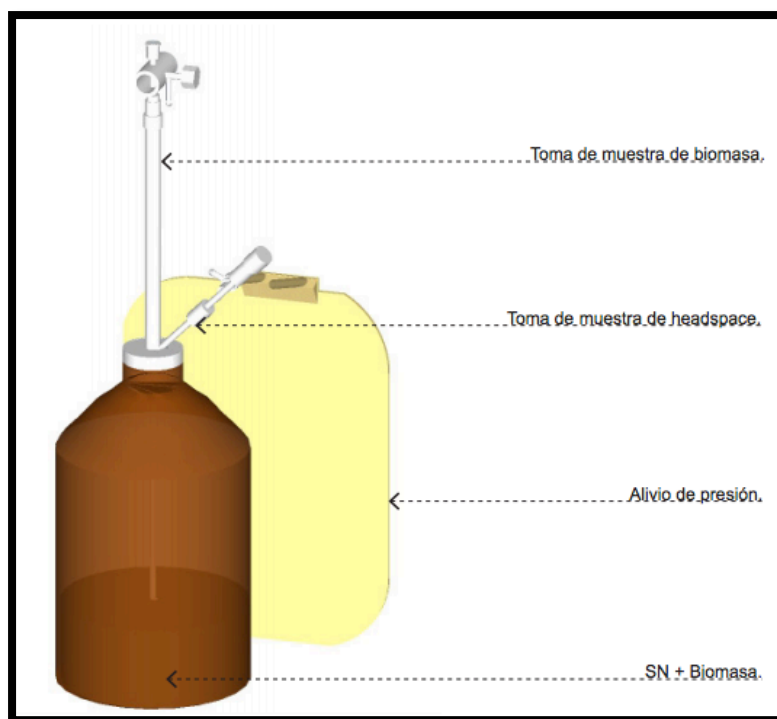


Figura 7. Montaje para el estudio cinético

Los reactores se alimentaron colocando 50 mL del inoculo aclimatado y 50 mL de solución nutritiva (**Tabla 8**). Finalmente, con una jeringa de 50 unidades marca BD ultrafine se dosificaron los contaminantes BTX (marca comercial Chemil) y se sellaron adecuadamente los reactores, que se ubicaron en agitadores previamente

armados lo que permitía asegurar una mezcla completa en cada uno de los sistemas.

La **Tabla 10** presenta un resumen de las variables que intervinieron en el desarrollo experimental de acuerdo a su tipo.

Tabla 10. Variables del Experimento

Tipo	Variable
Experimentales	Concentración de la Mezcla BTX Proporciones en la Mezcla
Dependientes- Covariables	Concentraciones de Sustrato Concentraciones de Biomasa
Variables de respuesta	Parámetros cinéticos Eficiencia de eliminación de contaminantes*

- Esta eficiencia se calculó de acuerdo a la siguiente expresión

$$\frac{\text{carga inicial} - \text{carga final}}{\text{carga inicial}}$$

4.3.2 Estudio Cinético

Acorde con los objetivos del estudio cinético se planteó el diseño experimental (Tabla 11). Como se puede observar, durante el experimento se realizaron para los 3 primeros reactores (sustratos individuales) 4 corridas, cada una con una duración de 11 horas a las diferentes dosis que se reportan. En la corrida número 4 se evaluaron diferentes mezclas de los sustratos en estudio: predominancia

benceno, predominancia tolueno, predominancia xileno y equimolar. Cada reactor se corrió por duplicado y adicionalmente se analizó un reactor blanco sin inóculo.

Tabla 11. Diseño experimental estudio cinético

	Corrida 1			Corrida 2			Corrida 3			Corrida 4		
Dosis	30 μ L			60 μ L			90 μ L			120 μ L		
	B%	T%	X%	B%	T%	X%	B%	T%	X%	B%	T%	X%
Reactor 1	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-
Reactor 2	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-
Reactor 3	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100
							Reactor 4			50	25	25
							Reactor 5			25	50	25
							Reactor 6			25	25	50
							Reactor 7			33.3	33.3	33.3

Para cada reactor se repitió el mismo protocolo que se describe a continuación:

Todas las corridas comenzaron una vez el sustrato entró en el reactor, se tomó una muestra al tiempo cero para conocer la concentración inicial de sustrato en el “headspace” y de biomasa de cada uno de los reactores. Posteriormente se tomaron muestras tanto de sustrato como de biomasa cada hora por un periodo de 11 horas.

Con una jeringa para líquido, se tomaron por cada uno de los reactores 0,5 mL de muestra de biomasa mediante la manguera adaptada con la llave de tres vías. Para la concentración de los sustratos se utilizó una jeringa especial para cromatografía de gases para tomar 5 mL de muestra en el “headspace” por cada uno de los reactores.

Las muestras de biomasa se almacenaron en tubos Vacutainer® y se mantuvieron en frío por cortos periodos de tiempo, se hicieron las mediciones el mismo día utilizando el protocolo de Bradford (ver Anexo 8.1). Por otro lado las muestras gaseosas de sustrato se almacenaron en viales con capacidades entre 10 y 20 mL debidamente sellados con el fin de evitar fugas (anexo 8.2). Las concentraciones obtenidas en el “headspace” se reportan en el anexo 8.3.2

4.4 ANÁLISIS DE DATOS Y EVALUACIÓN DEL MODELO CINÉTICO

Los datos cinéticos obtenidos en los reactores 1, 2 y 3 se ajustaron a los modelos de Monod y de Haldane. Las ecuaciones de los modelos expuestas en el marco teórico se linealizaron obteniendo la ecuación 9 para el modelo de Monod y la ecuación 10 para el modelo de Haldane. A partir de la información generada se determinó el valor de la tasa de crecimiento de los microorganismos (μ) correspondiente a cada dosis inicial, este valor se obtuvo graficando el \ln de la concentración de biomasa vs tiempo, con los datos identificados de la fase de crecimiento exponencial. Las pendientes de las regresiones lineales obtenidas por el método de los mínimos cuadrados proveen los valores de μ .

$$\frac{[S_0]}{\mu} = \frac{[S_0]}{\mu_{max}} + \frac{K_s}{\mu_{max}}$$

Ecuación 9

$$\frac{[S_0]}{\mu} = \frac{[S_0]^2}{\mu^* K_i} + \frac{[S_0]}{\mu^*} + \frac{K_h}{\mu^*}$$

Ecuación 10

Para determinar los parámetros cinéticos del modelo de Monod se realizaron regresiones lineales, mientras que los parámetros del modelo de Haldane se obtuvieron siguiendo una regresión polinómica de segundo orden. Los valores de las tasas de crecimiento obtenidas se compararon con posibles valores obtenidos por otros autores reportados en la literatura.

La simulación cinética en las mezclas de sustrato, se hizo con el modelo “SKIP” (Sum Kinetics with Interacción Parameters) descrito por la ecuación 11 donde se involucran los parámetros cinéticos: tasa de crecimiento máximo ($\mu_{m\acute{a}x}$) y la constante de saturación (K_s) obtenidos con el modelo de mejor ajuste a los datos experimentales en la degradación de los compuestos individuales.

$$\mu = \frac{\mu_{m\acute{a}x1} S_1}{K_{s1} + S_1 + (I_{2,1}) S_2} + \frac{\mu_{m\acute{a}x2} S_2}{K_{s2} + S_2 + (I_{1,2}) S_1}$$

Ecuación 11

Donde $I_{2,1}$ $I_{1,2}$ son los parámetros de interacción entre los sustratos.

Utilizando el software Matlab se programó la función OD45, que permite solucionar ecuaciones diferenciales ordinarias en simultáneo. Una vez corrido el modelo “SKIP”, se evaluó el ajuste de los datos experimentales a los que proporciona el modelo. Posteriormente se creó un algoritmo de optimización para estimar los parámetros de interacción entre los sustratos cuando se encontraron en mezcla.

El modelo “SKIP” se utiliza cuando no se conoce con exactitud la interacción que existe entre los compuestos estudiados. Sin embargo, para compuestos similares como por ejemplo el benceno, tolueno y xileno, los cuales pueden catabolizarse

por las mismas vías metabólicas, las interacciones presentes entre ellos pueden suponerse competitivas y por tanto la aplicabilidad de este modelo parecen tanto intuitiva como razonable.

La determinación del grado de interacción competitiva entre los sustratos se realizó mediante una prueba de hipótesis con el fin de comprobar o rechazar la hipótesis inicial propuesta: “Las interacciones entre los contaminantes estudiados son puramente competitivas” para esto se compararon las ecuaciones de modelo de inhibición competitiva (**Ecuación 12**) (Yoon et al., 1977) y el modelo SKIP (**Ecuación 13**).

$$\mu = \frac{\mu_{max1}S_1}{K_{S1}+S_1+\left(\frac{K_{S1}}{K_{S2}}\right)S_2} + \frac{\mu_{max2}S_2}{K_{S2}+S_2+\left(\frac{K_{S2}}{K_{S1}}\right)S_1} \quad \text{Ecuación 12}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max1}S_1}{K_{S1}+S_1+(I_{2,1})S_2} + \frac{\mu_{max2}S_2}{K_{S2}+S_2+(I_{1,2})S_1} \quad \text{Ecuación 13}$$

El modelo “SKIP” se reduce al modelo de inhibición competitiva si $I_{2,1} = \frac{K_{S1}}{K_{S2}}$. Una comparación de estas cantidades indica si la cinética propuesta por “SKIP” es estadísticamente diferente de la inhibición competitiva. Los valores de Ks se tomaron de los resultados encontrados por el modelo de mejor ajuste en la cinética de los compuestos individuales y constituyeron los valores esperados. Los parámetros I obtenidos con la programación en Matlab son los observados. Y se relacionan como muestra la **Ecuación 14** para obtener el valor de χ^2 .

$$\chi^2 = \sum \frac{(o-e)^2}{e} \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde χ^2 es el nombre de la prueba de hipótesis, e son los valores esperados y o, son los observados.

El nivel de significancia corresponde al error que se puede cometer al rechazar la hipótesis nula siendo verdadera, para este caso los resultados se evaluaron para un nivel de significancia del 95% (Abuhamed,et.al , 2004). El valor de probabilidad (P) se obtuvo mediante el software Graphpad, este valor muestra la probabilidad de haber obtenido el resultado suponiendo la hipótesis planteada como cierta.

5 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

5.1 CARACTERIZACIÓN DEL LODO

La tabla 12 muestra los datos correspondientes a la caracterización inicial de lodo. El lodo se puede describir como un líquido – semisólido con un contenido de sólidos totales entre 1,51 y 2,12%. Las dos muestras analizadas presentan un pH ligeramente alcalino, próximos a la neutralidad encontrándose en los rangos donde generalmente existe actividad biológica significativa (Ramalho, 1990). Por otro lado en el lodo se percibió olor fuerte, color negro intenso y textura viscosa.

Estas especies no fueron identificadas en el presente estudio sin embargo, basados en un número importante de estudios anteriores recogidos en la revisión bibliográfica realizada por El-Naas et al., (2014), se puede sospechar la presencia del grupo pseudomonas específicamente las especies *p.putida* y *p.aeuroginosa* reconocidas por sus habilidades para degradar compuestos orgánicos.

Tabla 12. Caracterización inicial del lodo

	Muestra 1*	Muestra 2**
Contenido de Agua (%)	98,49	97,88
Sólidos Totales (%)	1,51	2,12
Sólidos Volátiles (%)	0,41	0,70
pH (unidades)	7,90	8,03
(SSV/SST)	0,27	0,33

* ** Muestra 1 y 2 hacen referencia al lodo tomado de la parte central y orilla de la laguna respectivamente.

La relación SSV/SST es importante debido a que a partir de ella se puede establecer el comportamiento potencial de bacterias activas útiles para la degradación efectiva de la materia orgánica compleja presente en el agua de formación sujeta a estudio, ya que estos porcentajes se asocian a la biomasa formada.

5.2 ACLIMATACIÓN DEL INOCULO

En la figura 8 se muestran los porcentajes de eliminación de BTX para los reactores 1, 2, 3 y 4 durante la fase de aclimatación del inóculo. Como se puede observar la eficiencia de eliminación de los BTX en los cuatro reactores ocurre de manera similar a medida que se duplica la dosis de BTX, la eficiencia tiende a disminuir, pero luego en el tiempo se alcanzan máximas eficiencias cercanas al 100%.

En la fase inicial del experimento (figura 8), se presentaron, hasta el día 10, porcentajes de eliminación de BTX por debajo del 40%, lo que refleja un periodo inicial de adaptación del inóculo a las condiciones del nuevo sustrato. Sin embargo, a partir de este día hubo un incremento en las eficiencias hasta alcanzar un 100% en el día 14. Por otra parte, al duplicarse la dosis de contaminante y adicionarse 40 µL de BTXs (día 16), se observó un descenso de la eficiencia de eliminación (65%) esto se atribuyó a que la biomasa aún no se encuentra adaptada a la dosis de contaminante aplicada y la cantidad de microorganismos no es suficiente para remover esta nueva dosis, toma tiempo hasta el día 21 para lograr volver a eliminar en un 100% los contaminantes.

El siguiente declive en la eficiencia se debe a que la dosis de BTX que ingresa al sistema en el día 23 volvió a duplicarse, tal como se estableció en la metodología, alcanzando en 5 días una eficiencia del 100% (día 29), a pesar de que se observaron eficiencias menores, el tiempo de respuesta del inóculo para lograr eficiencias del 100% del contaminante fue el mismo que para el incremento en la dosis anterior. El último aumento en la dosis de BTX para llegar a la

concentración deseada en el sistema se realizó en el día 30 provocando inicialmente una reducción en la eficiencia de eliminación alrededor del 60% en los 4 reactores, para el día 33 las eficiencias estaban en el orden del 100% manteniéndose así hasta la última medición de contaminantes realizada.

En cuanto a los contaminantes, no se presentaron diferencias apreciables en los tiempos de degradación del benceno, tolueno y xileno. Sin embargo, el día 23 después del incremento en la dosis de contaminantes, el xileno mostró unas eficiencias de eliminación menores que el benceno y el tolueno, esto se atribuye a la mayor toxicidad del xileno comparada con el benceno y el tolueno (El-Naas et al., 2014). Lo anterior demuestra que en los reactores se presentaron condiciones similares de biodegradación y que el inóculo se adaptó al sustrato aplicado.

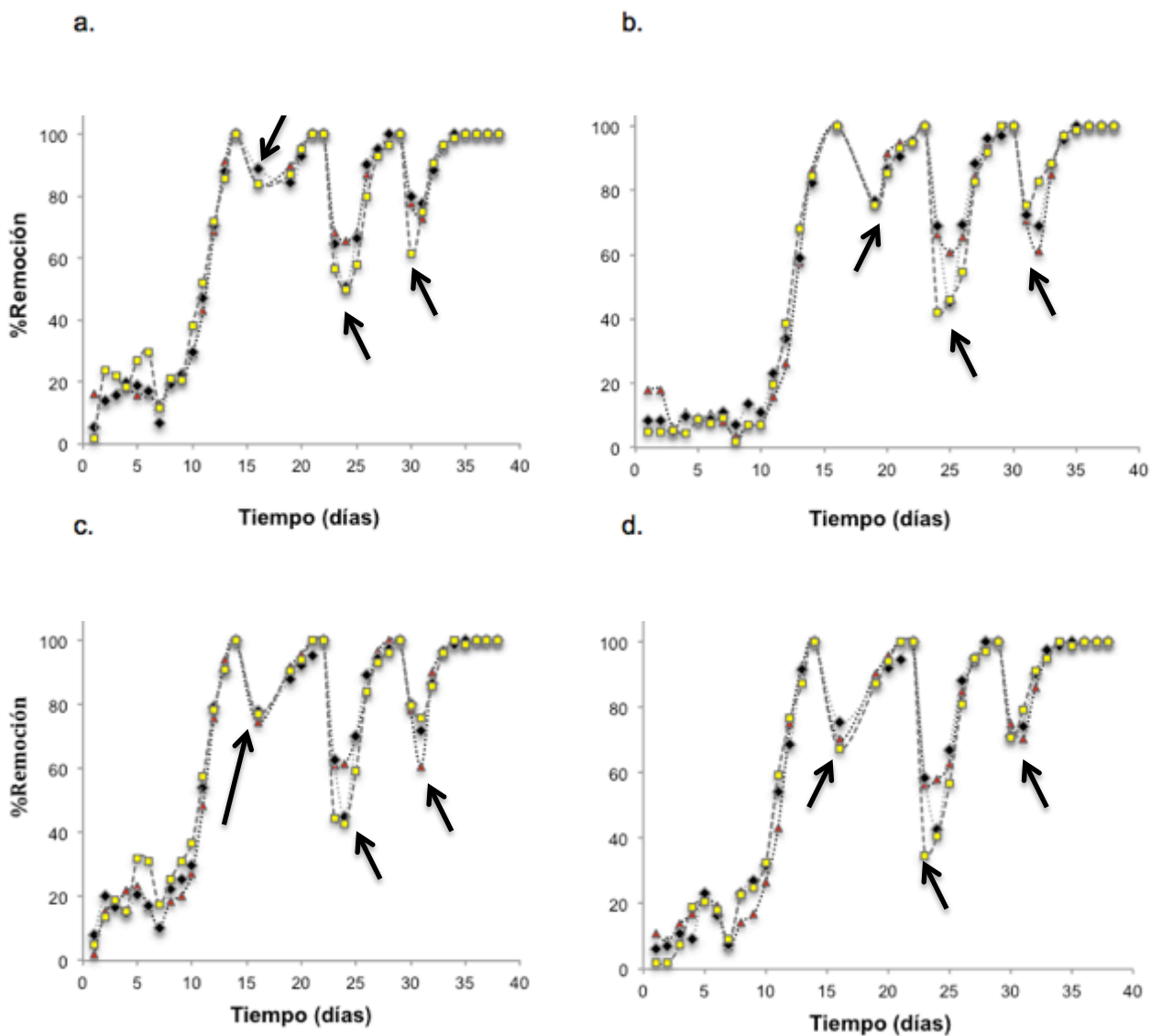






Figura 8. Porcentaje de Remoción de los contaminantes en el tiempo. Benceno , Tolueno , Xileno  a. Reactor 1, b. Reactor 2, c. Reactor 3, d. Reactor 4. Dosis doble de contaminante 

Por otra parte, la medición de los sólidos suspendidos volátiles (SSV), verificó que las condiciones en los reactores permitían que la degradación de los contaminantes se debiera principalmente a la presencia del inoculo y no a otros factores como la volatilización de los contaminantes.

La comparación realizada en el comportamiento de la degradación de las mezclas de BTX en los 4 reactores, permite que los porcentajes de remoción obtenidos puedan tomarse de un reactor diferente cada día y así compararlos con el crecimiento de biomasa. Por lo tanto, la **Figura 9** muestra para cada día los datos de un reactor diferente empezando en el reactor número 1.

En la **Figura 9** se identifica a un inóculo en proceso de adaptación al nuevo sustrato (BTX). Aproximadamente en los primeros 10 días la biomasa en la muestra decae, lo que muestra no adaptación a los contaminantes a pesar de que la concentración de BTX es baja, este comportamiento es el esperado si se observan los porcentajes remanentes de los contaminantes (por encima del 60%), para esta situación los sólidos alcanzaron un valor mínimo (0,75%) el día 8.

Pasado el día 13, los sólidos suspendidos volátiles se mantienen por encima de 1,23%. En la gráfica, después de este punto, se evidencia un crecimiento de estos a través del tiempo, a pesar de que las dosis de BTX se incrementaron. Este crecimiento indica la adaptación progresiva de los microorganismos al sustrato con un valor máximo de 1,633% en el día 31, sustentado con los porcentajes remanentes encontrados de 0%.

Los puntos de aumento en las dosis de contaminantes se reflejan en disminuciones en los SSV. Sin embargo, la reposición de solución nutritiva y la progresiva adaptación de los microorganismos a los contaminantes permite que los sólidos vuelvan a aumentar en el tiempo. Al final del día 52 se obtuvo un inóculo aclimatado a los contaminantes en estudio, capaz de utilizarlos como sustrato y así generar un crecimiento de biomasa.

Maliyekkal et al. (2004) reveló que un inóculo aclimatado con un compuesto comparativamente menos tóxico disminuye la efectividad de la biodegradación de compuestos con una relativa mayor toxicidad. Este estudio descartó la posibilidad de utilizar el tolueno como único sustrato en la aclimatación. Además afirma que la mayoría de los estudios realizados en “batch” y en fase líquida en el pasado se

han centrado principalmente en la degradación de sustratos individuales con una bioamasa adaptada al mismo sustrato

Este inoculo aclimatado por los tres sustratos (BTX) en igualdad de proporciones se utilizó para la degradación tanto de los sustratos individuales como en mezcla con resultados importantes mostrados en el estudio cinético que procede. Se muestra así, la efectividad del protocolo de aclimatación planteado.

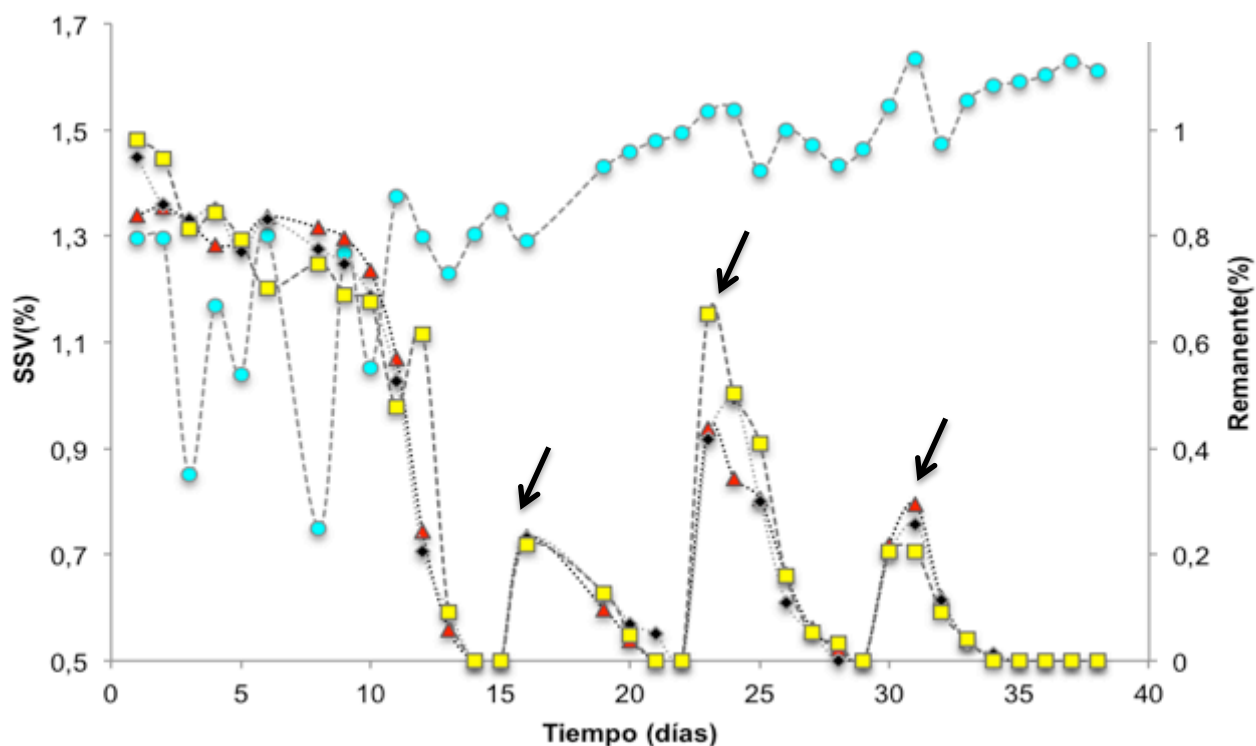


Figura 9. Comportamiento de los SSV y %remanente de los contaminantes en el tiempo. Benceno ▲, tolueno ●, xileno ■, biomasa ●. Dosis doble de contaminante →

En el proceso de aclimatación el pH medido fue propicio para el crecimiento de la biomasa y permitió la realización de los procesos metabólicos en donde los

microorganismos utilizaron los contaminantes (BTX) como sustrato. Este rango de valores de pH en el que se mantuvo el lodo en la fase de aclimatación coincide con los valores considerados óptimos en la literatura.. El rango de pH del presente estudio estuvo en concordancia con lo reportado por El-Naas et al. (2014). Para Lin & Cheng (2007) los microorganismos crecieron a un pH 6.8 ± 1 en un medio mineral. Maliyekkal et al. (2004) utilizaron NaOH o HCl para mantener los microorganismos en un pH cercano a 7. Adicionalmente, específicamente para la biodegradación de mezclas de BTEX por *P. Putida* se reveló que la actividad bacteriana fue completamente inhibida a un pH de 5,9 y un pH de 10 y fue óptima en un rango de 6-8 (You et al., 2013). Finalmente Wani et al. (1997) identificaron que la mayoría de las bacterias presentes en la biodegradación son neutrofilas, por tanto el pH óptimo al que se logra el más alto grado de degradación es 7,5.

5.3 ESTUDIO CINÉTICO

Los resultados de la obtención de parámetros cinéticos y ajuste al modelo se reportan por contaminantes: iniciando con los compuestos individuales utilizados como única fuente de carbono y seguidamente las mezclas realizadas. Se muestran los resultados de los reactores que mejor se ajustaron a los modelos

5.3.1 Sustratos Individuales

5.3.1.1 Tolueno

La **Figura 10** presenta la $[C_7H_8]_0/\mu$ como una función de la concentración inicial de tolueno obtenido con los datos experimentales, también se muestra las dos curvas de regresión, lineal para el modelo de Monod y polinómica de segundo orden para el modelo de Haldane.

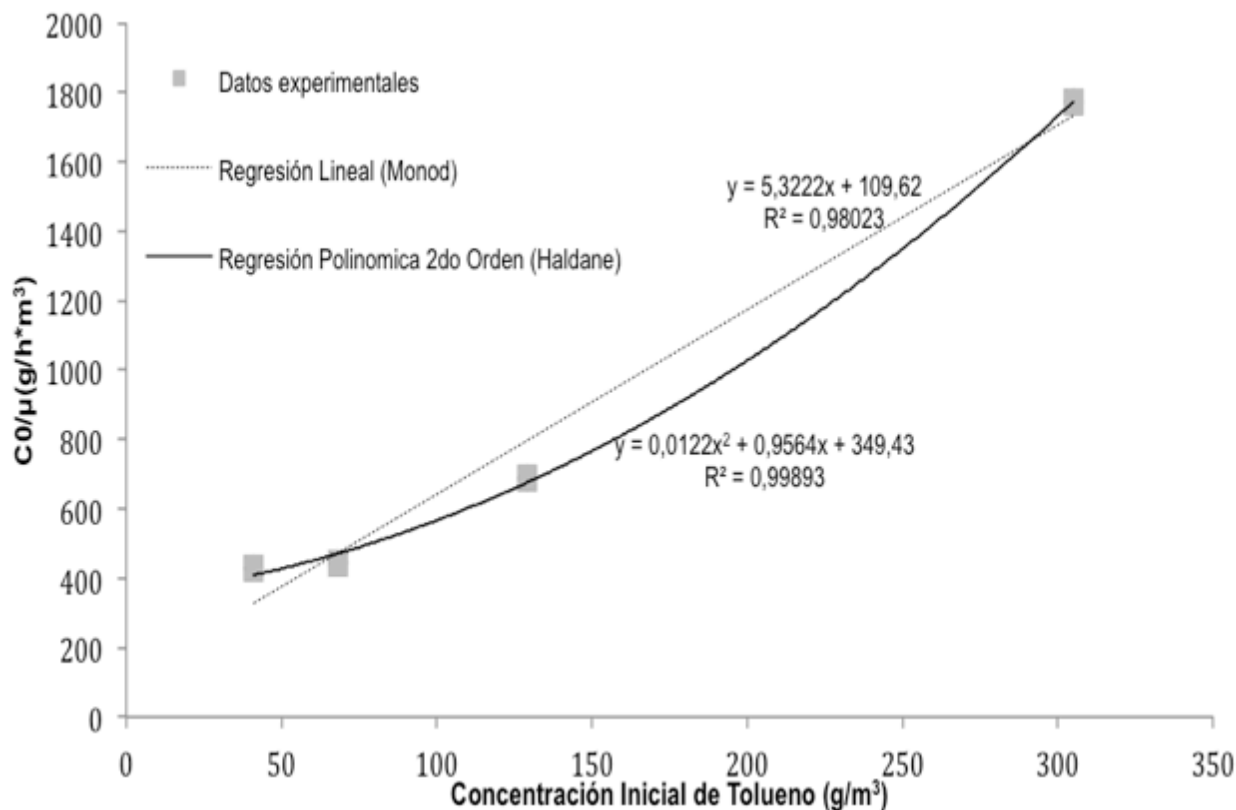


Figura 10 . Evolución de $[C_7H_8]_0/\mu$ vs la concentración inicial del tolueno

En la **Figura 11** se muestra la evolución de la tasa de crecimiento específica obtenidas experimentalmente, μ , versus la concentración inicial de tolueno, y lo obtenido mediante los dos modelos.

La correlación encontrada en la **Figura 10** muestra un mejor ajuste a los puntos obtenidos experimentalmente para la regresión polinómica de segundo orden correspondiente al modelo de Haldane ($R^2 > 0,99$). Esto se ratifica en la **Figura 11**, donde se observa como el modelo de Monod diverge de los datos experimentales, mientras que la correlación de Haldane muestra estar más acorde y cercana a ellos. Esto se atribuye principalmente al termino de inhibición en el denominador de la ecuación de Haldane (S^2/k_i), lo que confirma el hecho de que las altas concentraciones de tolueno inhiben el proceso microbiológico.

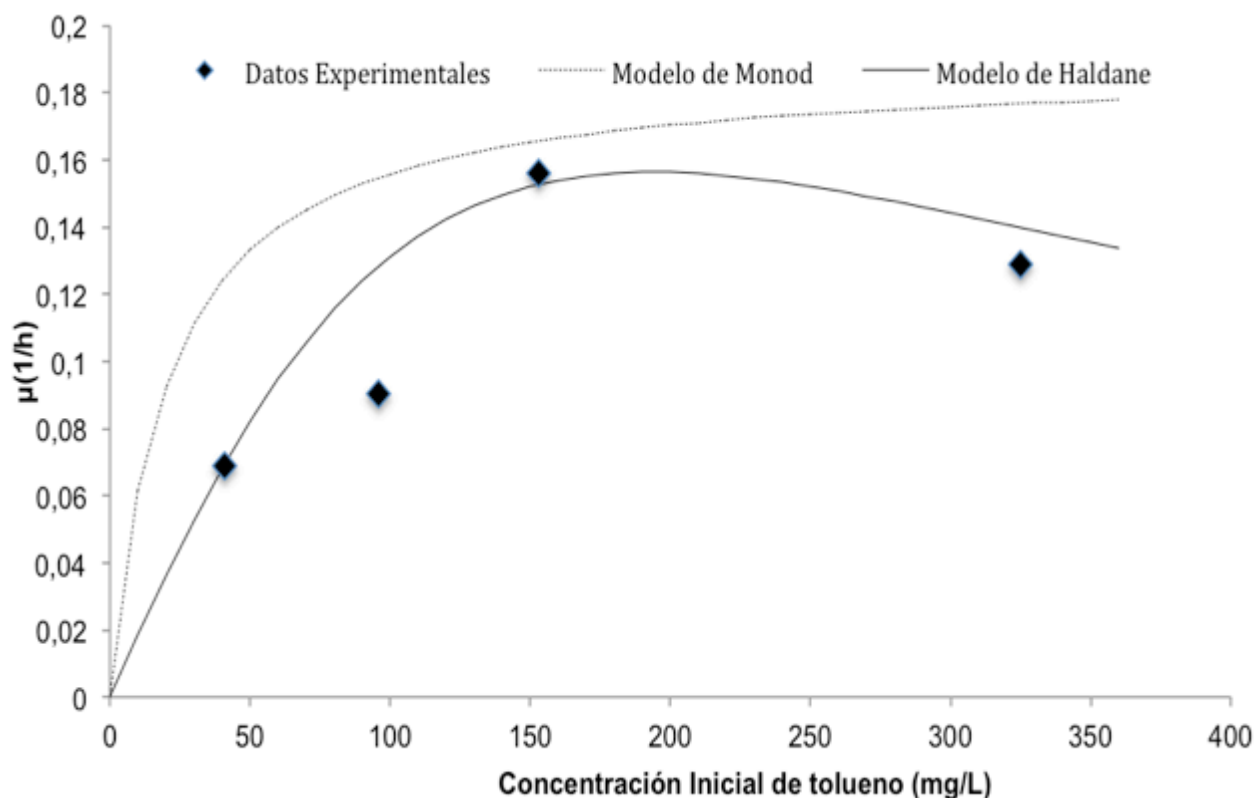


Figura 11. Evolución de μ vs la concentración inicial de tolueno

Para concentraciones de tolueno (**Figura 11**) en un rango de 0-154 mg/L, μ es una función creciente de la concentración inicial de contaminante. Alrededor de 154 mg/L, los valores de μ logran un nivel óptimo de $0,16h^{-1}$. Estos resultados muestran que hasta 154 mg/L, la reacción de biodegradación se mejora por el incremento de la concentración inicial de tolueno. Sin embargo, para concentraciones iniciales mayores a 154 mg/L, los valores de μ tienden a decrecer suavemente, lo cual indica que la biorreacción se está inhibiendo por las altas concentraciones de tolueno. Así, a concentraciones mayores de 154 mg/L, el tolueno empieza a ser tóxico para los microorganismos presentes en el inoculo. El valor umbral de toxicidad encontrado en este estudio (≈ 154 mg/L) está por encima en un 97% (alrededor de 5 mg/L) de los valores reportados por M.-C. Delhoménie

et al., (2008) y por Vayenas, et al. (2002) y por debajo de lo reportado (200 mg/L, 420 mg/L) por Abuhamed et al., (2004) y por a K. Mathur & Majumder (2010). Las diferencias en los valores reportados radican en los microorganismos utilizados para la degradación de los compuestos, así como los métodos de aclimatación utilizados para los inoculos.

En la tabla 13 se comparan los valores de los parámetros cinéticos obtenidos en el presente estudio con los reportados en la literatura. Los valores obtenidos de $\mu_{\text{máx}}$ y K_s son cercanos a lo reportado por Mathur & Majumder (2010) y Reardon et al. (2000) respectivamente en lo que se refiere al modelo de Monod; para el modelo de Haldane los resultados de μ^* y K_i se acercan a lo encontrado por Young-Sook Oh et al. (1994) Maliyekkal et al. (2004), respectivamente.

Por otro lado, estos parámetros cinéticos obtenidos en el presente estudio, se alejan considerablemente de los reportados por Feisther et al. (2015) y por Lin & Cheng (2007) en lo que respecta a los dos modelos cinéticos y de los mostrados por Lu et al. (2000) específicamente el modelo de Haldane.

Tabla 13. Parámetros cinéticos de la biodegradación del tolueno

Modelo Cinético	Concentración (mg/L)	Parámetros	Referencias
Monod	0-305	$\mu_{\text{máx.}} = 0,18\text{h}^{-1}$; $K_s = 21\text{ mg/L}$	Presente Estudio
Monod	50	$\mu_{\text{máx.}} = 0,00530\text{h}^{-1}$; $K_s = 199,93\text{mg/L}$	(Feisther et al., 2015)
Monod	15–30–60–90	$\mu_{\text{máx.}} = 0,58\text{h}^{-1}$; $K_s = 10,8\text{mg/L}$	(Robledo-Ortíz et al., 2011)

Monod	10-400	$\mu_{\text{máx.}} = 0,1722 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 62,56 \text{ mg/L}$	(Mathur & Majumder, 2010)
Monod	47-87	$\mu_{\text{máx.}} = 0,062 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 3,02 \text{ mg/L}$	(Lin & Cheng, 2007)
Monod	43	$\mu_{\text{máx.}} = 0,86 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 13,8 \text{ mg/L}$	(Reardon et al., 2000)
Haldane	0-305	$\mu^* = 1,04 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 365,4 \text{ mg/L}$; $K_i = 78,4 \text{ mg/L}$	Presente estudio
Haldane	50	$\mu^* = 0,00307 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 340 \text{ mg/L}$; $K_i = 500 \text{ mg/L}$	(Feisther et al., 2015)
Haldane	46-274	$\mu^* = 0,0064 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 9,851 \text{ mg/L}$; $K_i = 48,48 \text{ mg/L}$	(Lu et al., 2000)
Haldane	25-58	$\mu^* = 0,897 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 0,845 \text{ mg/L}$; $K_i = 3.41 \text{ mg/L}$	(Lin & Cheng, 2007)
Haldane	90	$\mu^* = 0,61 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 6,47 \text{ mg/L}$; $K_i = 88 \text{ mg/L}$	(Abuhamed et al., 2004)
Haldane	209,4-269,5	$\mu^* = 0,11 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 56,6 \text{ mg/L}$; $K_i = 29,4 \text{ mg/L}$	(Maliyekkal et al., 2004)
Haldane	5-70	$\mu^* = 1,5 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 11,03 \text{ mg/L}$; $K_i = 78,93 \text{ mg/L}$	(Young-Sook Oh et al., 1994)

5.3.1.2 Benceno

La **Figura 12** presenta la $[C_6H_6]_0/\mu$ como una función de la concentración inicial de benceno obtenido con los datos experimentales. También se muestran las dos curvas de regresión, lineal para el modelo de Monod y polinómica de segundo orden para el modelo de Haldane

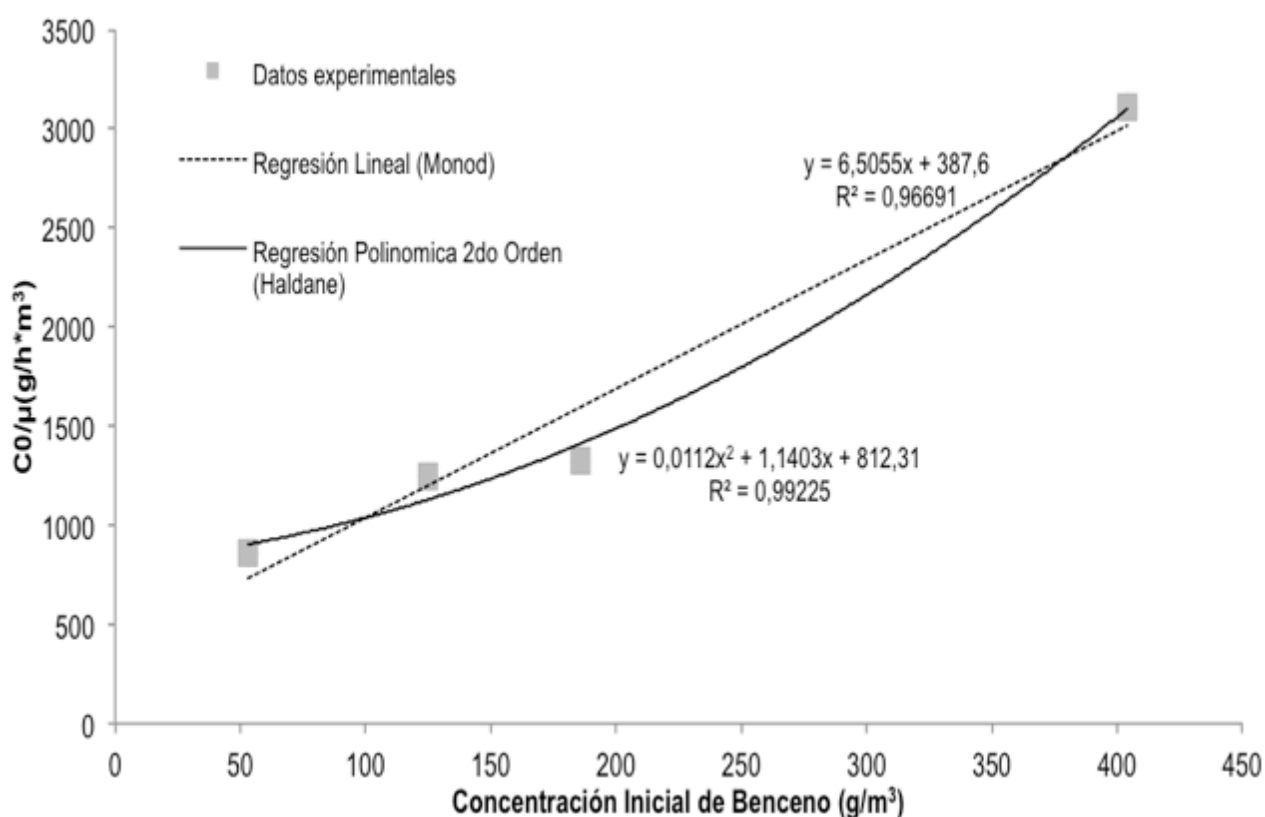


Figura 12. Evolución de $[C_6H_6]_0/\mu$ vs la concentración inicial del benceno.

En la **Figura 13** se muestra la evolución de la tasa de crecimiento específica obtenidas experimentalmente, μ , versus la concentración inicial de benceno, y lo obtenido mediante los dos modelos.

La correlación obtenida por el modelo de Haldane es mayor a la encontrada para

linealización correspondiente al modelo de Monod ($R^2=0,99>0,97$) lo que se ratifica con la **Figura 13** donde se observa un mayor ajuste a los datos experimentales a la curva obtenida mediante la ecuación de inhibición de Haldane. Aún así, el modelo de Monod mostró un buen ajuste para el sustrato a bajas concentraciones.

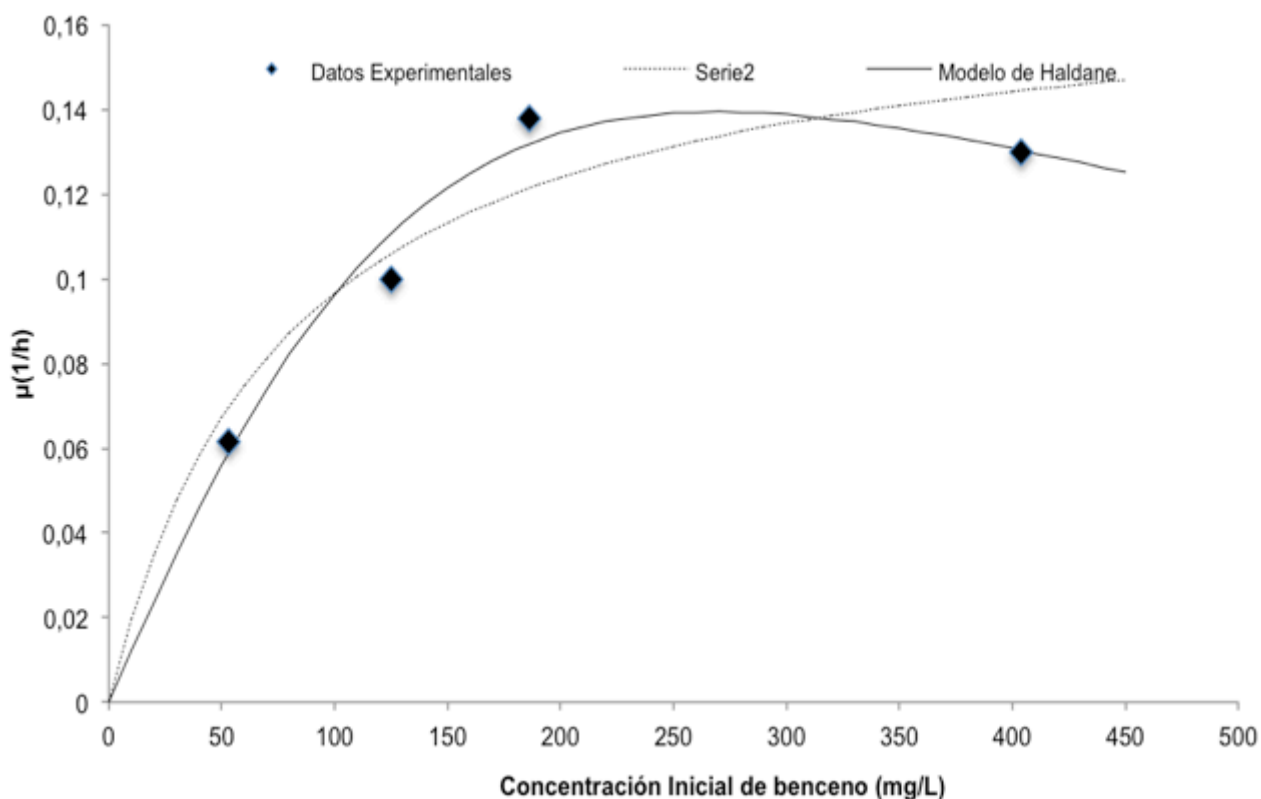


Figura 13. Evolución de μ vs la concentración inicial de benceno

Para el benceno, se puede notar una zona de crecimiento de μ para concentraciones de benceno menores a 190 mg/L, un nivel óptimo donde $\mu^*=0,14h^{-1}$, para concentraciones de benceno cercanas a 186 mg/L, y una zona de ligera disminución para concentraciones mayores a 190 mg/L, donde se puede considerar que, como ocurrió con el tolueno se presenta el fenómeno de inhibición

a una concentración inicial de benceno de 190 mg/L este valor está por encima de lo reportado por Li et al., (2006) y por Mathur & Majumder, (2010) quienes mostraron una inhibición en la degradación de benceno para unas concentraciones iniciales mayores de 80 mg/L y 150 mg/L respectivamente y por debajo de lo reportado por Abuhamed et al., (2004), 380 mg/L. Se resalta que los valores de m se conservan por encima de $0,12 \text{ h}^{-1}$ incluso para concentraciones de benceno de más de 380 mg/L.

La **Tabla 14** muestra los valores reportados en la literatura para la biodegradación del benceno, obtenidos mediante los modelos de Monod y Haldane. Los parámetros cinéticos ($\mu_{\text{máx}}$; K_s) que mejor ajustan a la degradación del benceno estudiada por el modelo de Monod, están en el rango de lo reportado por Mathur & Majumder (2010) que trabajó con concentraciones de hasta 400 mg/L de sustrato. No obstante, para el modelo de Haldane, los valores no se encuentran en un rango comparable con los estudios reportados en la tabla 14.

Los valores reportados por Lin & Cheng (2007) tanto para el modelo de Monod como para el de Haldane son los que más se alejan de lo obtenido en el presente estudio, especialmente en la tasas de crecimiento $\mu_{\text{máx}}$ y μ^* que son menores. Esto se atribuye que los inoculos utilizados en su estudio no recibieron un proceso de aclimatación previo, lo que pudo retardar las velocidades de degradación del contaminante.

Tabla 14. Parámetros cinéticos de la biodegradación del benceno en la literatura

Modelo Cinético	Concentración (mg/L)	Parámetros	Referencias
Monod	0-404	$\mu_{\text{máx.}} = 0,15 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 59,6 \text{ mg/L}$	Presente estudio

Monod	15–30–60–90	$\mu_{\text{máx.}} = 0,5 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 10,11 \text{ mg/L}$	(Robledo-Ortíz et al., 2011)
Monod	10-400	$\mu_{\text{máx.}} = 0,1631 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 71,18 \text{ mg/L}$	(a K. Mathur & Majumder, 2010)
Monod	30-400	$\mu_{\text{máx.}} = 0,16 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 4,7 \text{ mg/L}$	(Kim et al., 2005)
Monod	16-32	$\mu_{\text{máx.}} = 0,36 \text{ h}^{-1}$ $K_s = 2,45 \text{ mg/L}$	(Alagappan & Cowan, 2004)
Monod	49.1	$\mu_{\text{máx.}} = 0,096 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 3,589 \text{ mg/L}$	(Lin & Cheng, 2007)
Monod	43	$\mu_{\text{máx.}} = 0,73 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 0,12 \text{ mg/L}$;	(Reardon et al., 2000)
Monod	70	$\mu_{\text{máx.}} = 0,40 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 3,36 \text{ mg/L}$	(Young-Sook Oh et al., 1994)
Haldane	0-404	$\mu^* = 0,87 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 712,5 \text{ mg/L}$; $K_i = 101,78 \text{ mg/L}$	Presente estudio
Haldane	15-49	$\mu^* = 0,0096 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 3,589 \text{ mg/L}$; $K_i = 1235 \text{ mg/L}$	(Lin & Cheng, 2007)l
Haldane	30-400	$\mu^* = 0,3 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 30 \text{ mg/L}$; $K_i = 100 \text{ mg/L}$	(Kim et al., 2005)

Haldane	142,1-211,8	$\mu^* = 0,0973 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 64,3 \text{ mg/L}$; $K_i = 170,2 \text{ mg/L}$	(Maliyekkal et al., 2004)
Haldane	3-187,7	$\mu^* = 0,62 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 1,65 \text{ mg/L}$; $K_i = 180 \text{ mg/L}$	(Abuhamed et al., 2004)
Haldane	46-274	$\mu^* = 0,00194 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 8,349 \text{ mgL}^{-1}$; $K_i = 191,89 \text{ mgL}^{-1}$	(Lu et al., 2000)

5.3.1.3 Xileno

La **Figura 14** presenta la $[C_8H_{10}]_0/\mu$ como una función de la concentración inicial de xileno obtenido con los datos experimentales, también se muestra las dos curvas de regresión, lineal para el modelo de Monod y polinómica de segundo orden para Haldne

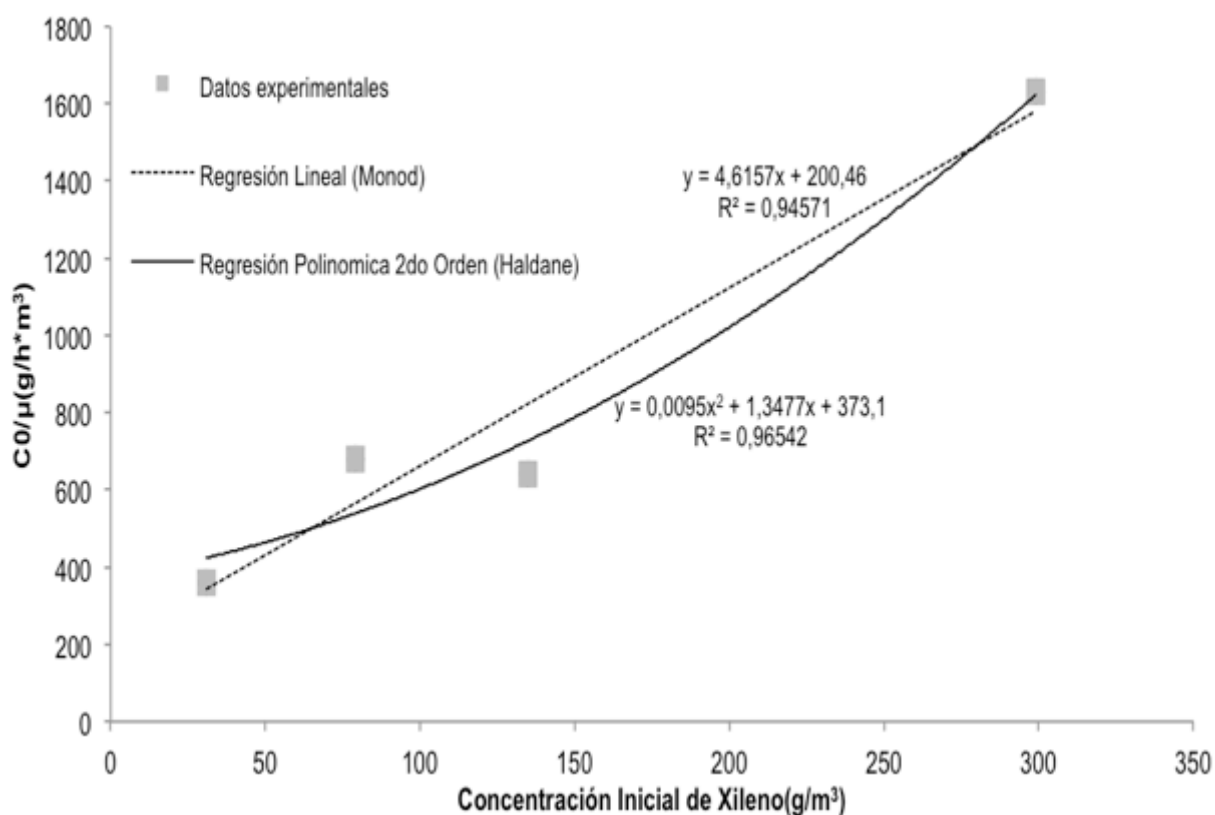


Figura 14. Evolución de $[C_8H_{10}]_0/\mu$ vs la concentración inicial del xileno.

En la **Figura 15** se muestra la evolución de la tasa de crecimiento específica obtenidas experimentalmente, μ , versus la concentración inicial de xileno, y lo obtenido mediante los dos modelos. La biodegradación del xileno para estas concentraciones estudiadas se ajusta mejor al modelo de Haldane, como lo muestra la alta correlación encontrada para la regresión ($R^2=0,97$) y lo confirma la presentación del modelo en la **Figura 15**

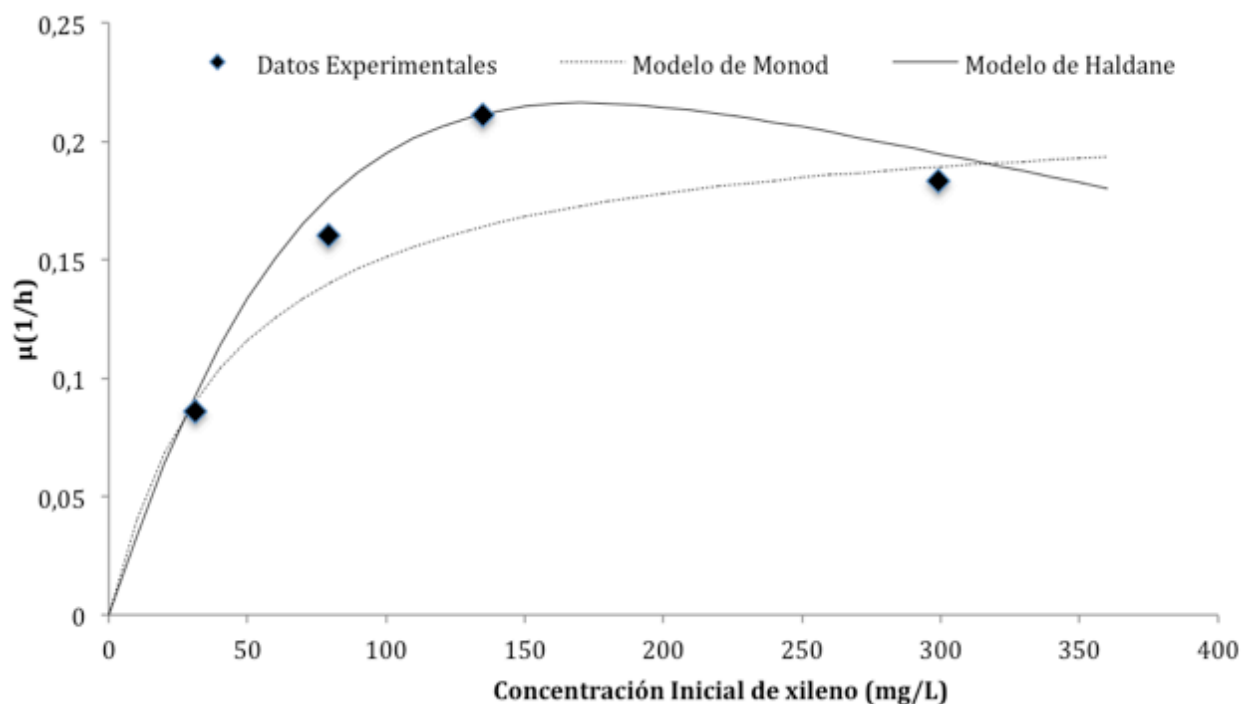


Figura 15. Evolución de μ vs la concentración inicial de xileno

μ es una función creciente en la degradación del xileno para concentraciones iniciales hasta de 135 mg/L y los valores de μ logran un nivel óptimo de $0,21 \text{ h}^{-1}$. No obstante, después de este valor los valores de μ tienden a decrecer indicando el umbral de inhibición para el xileno en este estudio, por encima de este valor el contaminante empieza a ser tóxico para los microorganismos lo que reduce la velocidad con la que los microorganismos pueden degradar el contaminante.

La tabla 15 muestra los valores reportados en la literatura para la biodegradación del xileno, obtenidos mediante los modelos de Monod y Haldane. Se puede observar que el valor de μ encontrado por Xiangqian Wang et al., (2015) es alto y más cercano al hallado en el presente estudio esto se atribuyó a las concentraciones utilizadas. El parámetro que indica la inhibición por sustrato (K_i) es similar a los reportados por Maliyekkal et al. (2004) Lin et al., (2007), que trabajaron también con concentraciones altas de sustrato.

Tabla 15. Parámetros cinéticos de la biodegradación del xileno

Modelo Cinético	Concentración (mg/L)	Parámetros	Referencias
Monod	0-299	$\mu_{\text{máx.}} = 0,22\text{h}^{-1}$; $K_s = 43,43 \text{ mg/L}$	Presente estudio
Monod	50	$\mu_{\text{máx.}} = 0,0033\text{h}^{-1}$; $K_s = 245,66 \text{ mg/L}$	(Feisther et al., 2015)
Monod	80	$\mu_{\text{máx.}} = 0,13 \text{ h}^{-1}$; $K_s = 0,36 \text{ mg/L}$	(Littlejohns & Daugulis, 2008)
Monod	10	$\mu_{\text{máx.}} = 0,535\text{h}^{-1}$; $K_s = 4,55 \text{ mg/L}$	(Chang et al., 1993)
Haldane	0-299	$\mu^* = 0,742 \text{ h}^{-1}$; $K_h = 276,84 \text{ mg/L}$; $K_i = 141,186 \text{ mg/L}$	Presente estudio
Haldane	50	$\mu^* = 0,01018\text{h}^{-1}$; $K_h = 345 \text{ mg/L}$; $K_i = 500 \text{ mg/L}$	(Feisther et al., 2015)
Haldane	200	$\mu^* = 0,491\text{h}^{-1}$; $K_h = 35,3 \text{ mg/L}$; $K_i = 76,3 \text{ mg/L}$	(Xiangqian Wang et al., 2015)
Haldane	46-274	$\mu^* = 0,0060\text{h}^{-1}$; $K_h = 1,427\text{mgL}^{-1}$; $K_i = 153,55 \text{ mgL}^{-1}$	(Lin et al., 2007)

Haldane	134,3-175,6	$\mu^* = 0,08h^{-1}$; $K_h = 58,2 \text{ mg/L}$; $K_i = 175,6 \text{ mg/L}$	(Maliyekkal et al., 2004)
---------	-------------	--	------------------------------

De manera general es de importancia resaltar la variabilidad de los parámetros cinéticos que se han reportado en la literatura, lo que los hace difícilmente comparables con lo obtenido en el presente estudio. Esto se debe principalmente a que estos parámetros son dependientes de una gran cantidad de factores sobre los que se trabaja en los estudios y que en ocasiones no son sencillos de manipular. Lin & Cheng (2007) afirman que los parámetros cinéticos de K_s y K_i están distribuidos en un amplio rango, dependiendo del tipo de célula y las condiciones de los microorganismos. Adicionalmente, grandes variaciones se derivan de la procedencia del cultivo, el método usado para determinar los parámetros, las correlaciones entre los parámetros, y la naturaleza no lineal de los modelos. Feisther et al. (2015), expresaron que una desventaja en relación a la cinética de biodegradación es la gran variabilidad de los parámetros cinéticos encontrados.

Sin embargo lo encontrado converge en que a altas concentraciones iniciales de contaminante utilizadas, como es el caso del presente estudio, donde se llegan a concentraciones por encima de 290 mg/L en los 3 compuestos BTX, el modelo que mejor ajusta a lo obtenido experimentalmente es el modelo de Haldane, donde se tiene en cuenta un factor de inhibición por la posible toxicidad del contaminante sobre los microorganismos presentes en el inóculo y que lo utilizan como sustrato. Shim et al., (2005) y Trigueros et al., (2010) confirmaron que para concentraciones por encima de 40 mg/L, el modelo de Haldane da el ajuste más favorable.

Las concentraciones iniciales máximas utilizadas de los contaminantes destacan sobre los utilizados en la estudios previos, a pesar de esto, los parámetros cinéticos determinados permiten entrever que el inóculo y el protocolo de aclimatación utilizado previamente fueron adecuados para degradar los sustratos objetivo.

5.3.1.4 Comparación del crecimiento en diferentes sustratos individuales

En la **Tabla 16** se muestra un resumen de los parámetros cinéticos estimados, el rango de concentraciones en el que se llevó a cabo el estudio y el modelo que mejor se ajustó a los resultados experimentales.

Tabla 16. Resumen parámetros cinéticos encontrados por el modelo de haldane

CONCENTRACIÓN INICIAL MÁXIMA(mg/L)		PARÁMETROS CINÉTICOS			Modelo
		$\mu_{\max} (h^{-1})$	$K_h (mg/L)$	$K_i (mg/L)$	
Tolueno	325	1,04	365,4	78,4	Haldane
Benceno	404	0,88	712,5	101,8	Haldane
Xileno	299	0,71	276,8	141,8	Haldane

La tasa específica de crecimiento más alta fue la obtenida por el tolueno, este contaminante ha sido identificado como el más fácilmente biodegradable entre los 3 compuestos en estudio. Esto podría ser debido a la presencia del grupo sustituto en el anillo que ofrece una ruta alternativa de ataque en la cadena lateral o de oxidar el anillo(M.-C. Delhoménie et al., 2008) (El-Naas et al., 2014). No obstante

el valor de μ en la degradación del benceno es importante si se tiene en cuenta la alta concentración inicial utilizada (404 mg/L). El valor más pequeño de K_h se obtuvo para el xileno lo que indica que el cultivo mostró una afinidad alta para el xileno, también indica que los microorganismos crecen con tasas (μ) muy próximas a las máximas ($\mu_{\text{máx}}$) a concentraciones de sustrato bajas y sólo cuando estas son extremadamente bajas, la velocidad de crecimiento se reduce. El benceno tuvo el más alto valor de K_h mostrando que el cultivo tuvo menos afinidad por el contaminante y para que el valor de μ sea alta las concentraciones del contaminante debe ser mayores a las del tolueno y xileno.

Los valores reportados de K_i , indican la existencia de inhibición para altas concentraciones de sustrato, entre más pequeño es su valor mayor es la inhibición en el crecimiento de los microorganismos. Estudios anteriores (El-Naas et al., 2014) indican que el xileno es el más tóxico. Sin embargo, su alto valor está relacionado con las concentraciones más bajas utilizadas comparadas con las del benceno y el tolueno.

5.3.2 Mezclas

5.3.2.1 Mezcla BTXs con composición B(51%),T(22%), X(27%)

En la **Figura 16** se presenta los datos experimentales obtenidos para el crecimiento de la biomasa cuando degrada una mezcla de BTXs con un 51% de benceno, 22% de tolueno y 27% de xileno (**Figura 17**) y su ajuste al modelo SKIP (línea continua).

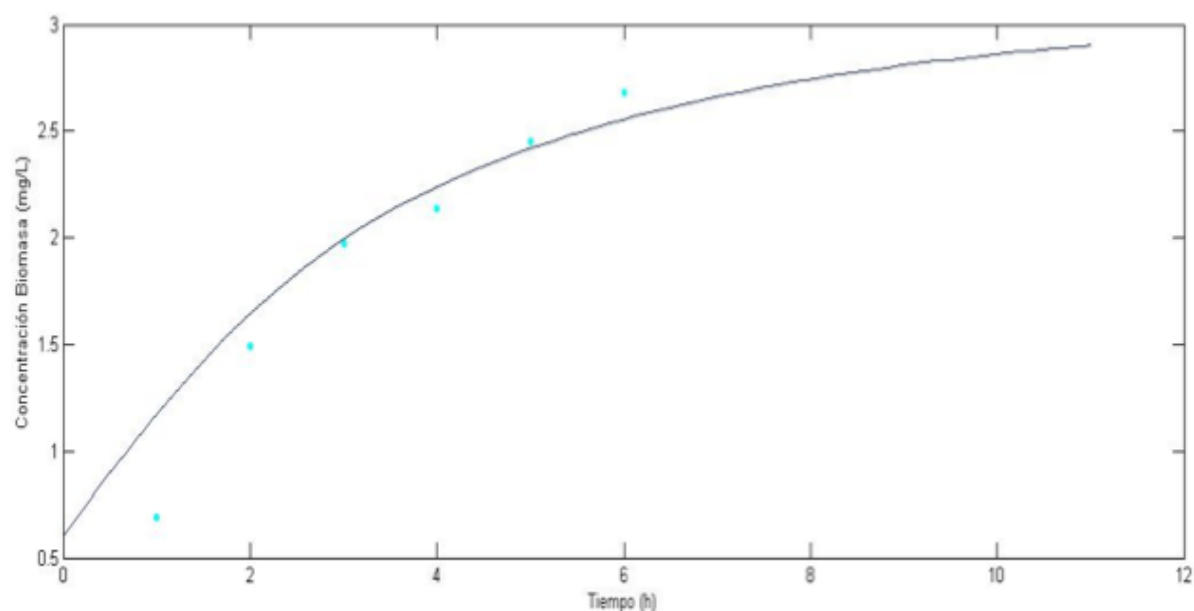


Figura 16. Datos experimentales y ajuste modelo SKIP para la biomasa. Mezcla con composición B(51%),T(22%), X(27%).

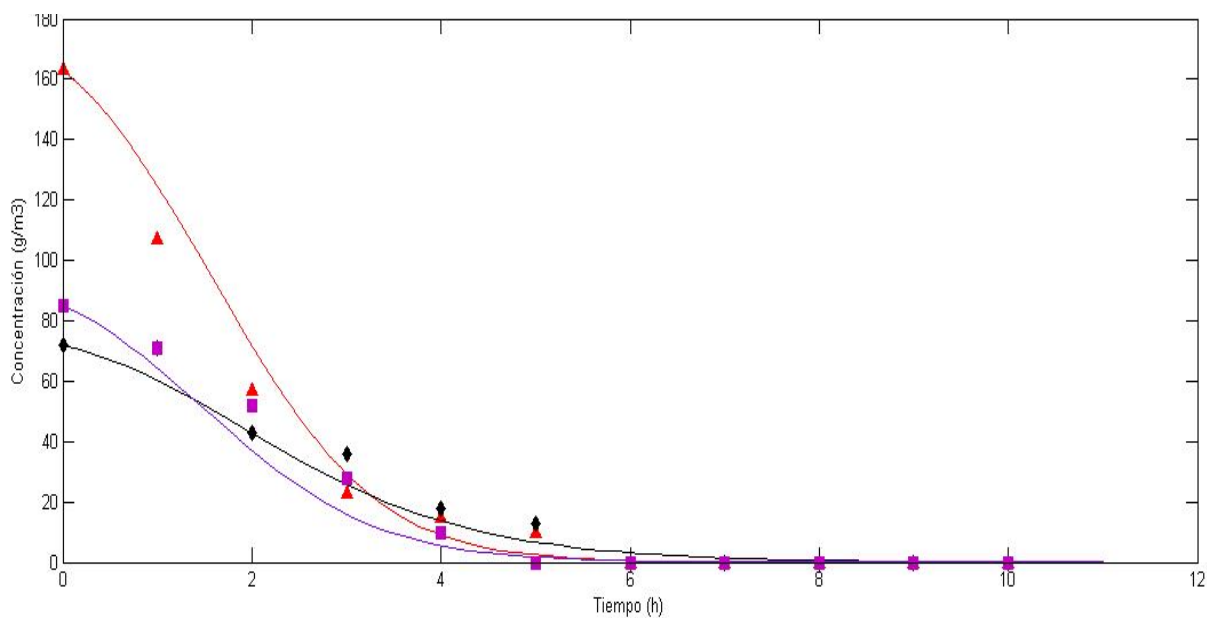


Figura 17. Datos experimentales y ajuste al modelo SKIP Sustratos. Mezcla BTXs con composición B(51%),T(22%), X(27%). Benceno ▲, Tolueno ◆, Xileno ■

Asumiendo que los contaminantes se degradan siguiendo una cinética de primer orden se calcularon las constantes de velocidad para cada uno de los compuestos, mostradas en la **Tabla 17**, adicionalmente se presentan las correlaciones de ajuste del modelo con los datos experimentales tanto para la biomasa como para los sustratos. De los datos se puede observar que en general para los tres compuestos hay un buen ajuste entre los datos medidos experimentales y lo predicho por el modelo ($R^2 > 0,89$).

Tabla 17. Correlaciones al modelo “SKIP” para la mezcla con composición B(51%),T(22%), X(27%)

		Correlación (R^2)	Constante de velocidad (h^{-1})
Biomasa		0,89	0,24
Sustrato	Benceno	0,97	0,62
	Tolueno	0,96	0,36
	Xileno	0,96	0,53

La biomasa en las primeras dos horas mostró una tasa de crecimiento menor a la que predijo el modelo. Sin embargo, a partir de la tercera hora la igualó superandola en la hora 6 hasta alcanzar una concentración máxima de de 2,7 mg/L.

El contaminante que primero se degradó fue el xileno que tenía una concentración inicial de 83 g/m^3 en un tiempo de cinco horas. Sin embargo, el compuesto que lo hizo más rápido fue el benceno, su constante de velocidad es mayor que para los otros dos compuestos(**Tabla 17**), con una concentración inicial de aproximadamente el doble llegó a una concentración con valor cero (0) en sólo

una hora más. El tolueno con la menor concentración inicial tardó el mismo tiempo en degradarse que el benceno presentando la constante de velocidad menor.

De importancia destacar que ningún contaminante retrasó su inicio de degradación, es decir que, desde la primera hora se observó una disminución en la concentración de todos los compuestos.

5.3.2.2 Mezcla BTXs con composición B(21%),T(55%), X(24%)

En la **Figura 18** se presenta los datos experimentales obtenidos para el crecimiento de la biomasa cuando degrada una mezcla de BTX con 21% de benceno, 55% de tolueno y 24% de xileno (**Figura 19**) y su ajuste al modelo “SKIP” (línea continua).

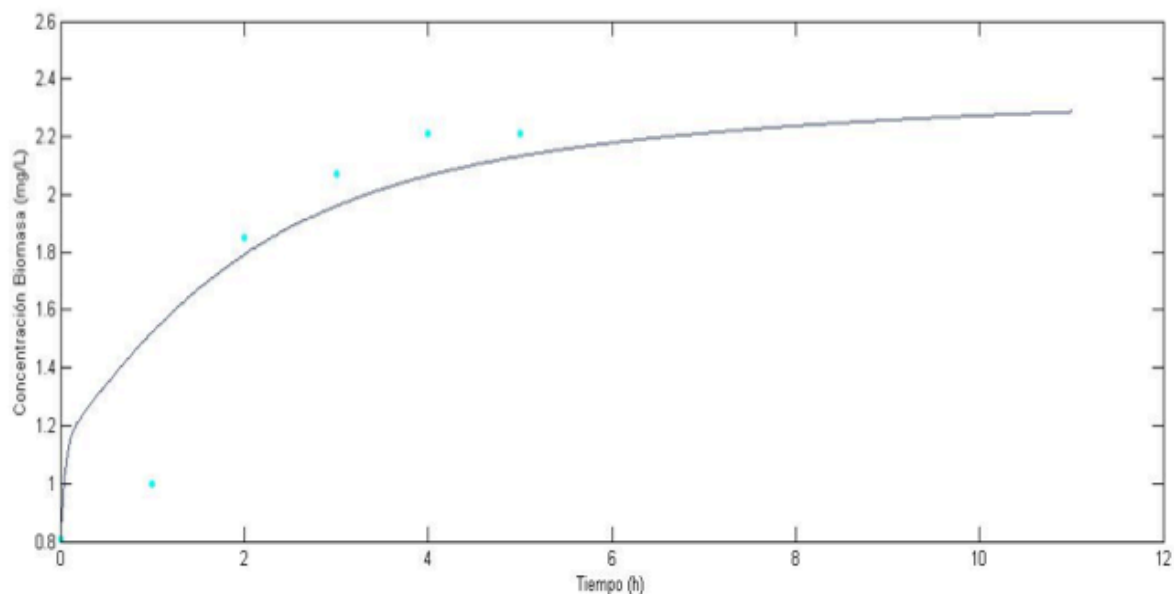


Figura 18. Datos experimentales y ajuste modelo SKIP para la biomasa. Mezcla BTXs con composición B(21%),T(55%), X(24%)

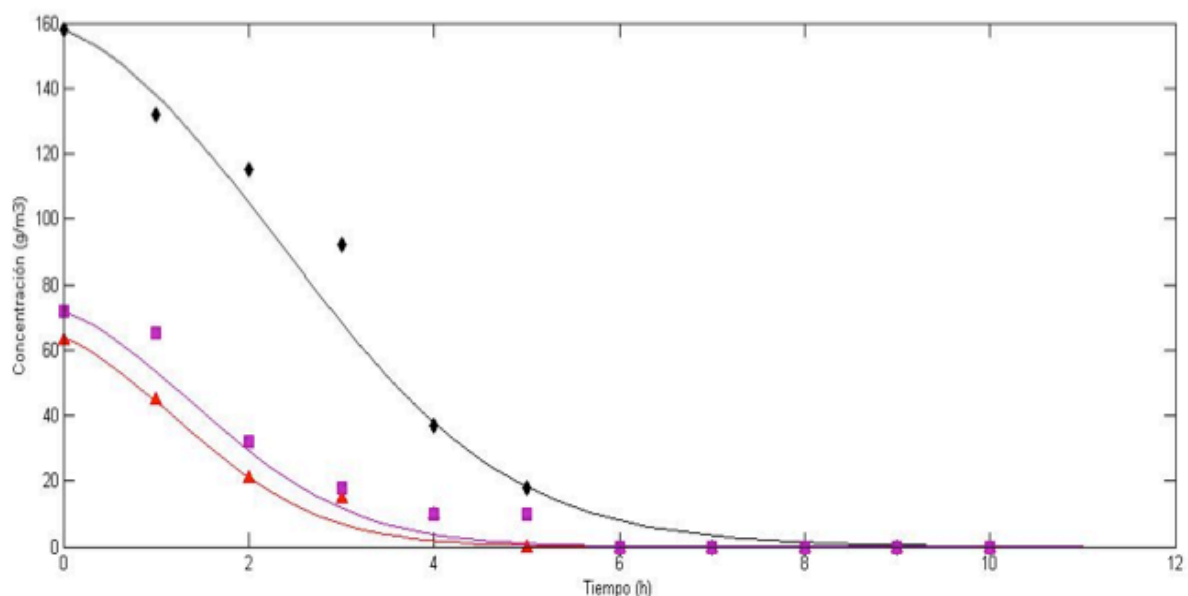


Figura 19. Datos experimentales y ajuste al modelo SKIP Sustratos. Mezcla BTXs con composición B(21%),T(55%), X(24%). Benceno ▲ , Tolueno ● , Xileno ■

El ajuste del modelo “SKIP” para los datos experimentales de la degradación de los sustratos en mezcla muestra unas correlaciones altas ($R^2 \geq 0,98$), siendo la más alta la observada para el tolueno, contaminante con una concentración predominante en la mezcla. Por otro lado, el crecimiento de la biomasa tuvo una correlación de 0,89. Las correlaciones tanto para la biomasa como para los sustratos presentes en la mezcla se presentan en la **Tabla 18**. Adicionalmente se muestran las constantes de velocidad de degradación de cada compuesto y de crecimiento de biomasa, se calcularon asumiendo una cinética de primer orden.

En la primera hora la concentración de biomasa ajustada con el modelo fue mayor a la obtenida experimentalmente, pero a partir de la segunda hora las concentraciones se mantuvieron por encima de lo modelado por “SKIP” hasta la hora 5 que alcanzó un máximo de aproximadamente 2,2 mg/L.

Tabla 18. Correlaciones al modelo “SKIP” para la mezcla con composición B(21%),T(55%), X(24%)

		Correlación (R ²)	Constante de velocidad (h ⁻¹)
Biomasa		0,89	0,18
Sustrat	Benceo	0,97	0,45
	Tolueno	0,98	0,41
	Xileno	0,96	0,46

Cuando la mezcla presentó esta composición B(21%),T(55%), X(24%), el benceno, contaminante con la menor concentración inicial (62 g/m³), se degradó completamente en 5 horas, seguido por el xileno que llegó a una concentración de 0 g/m³ en 6 horas, por último el tolueno tardó aproximadamente 8 horas en decaer completamente desde una concentración inicial de 160 g/m³. El tolueno presentó la menor constante de velocidad mientras que las constantes del xileno y el benceno fueron muy similares. Los tres contaminantes empezaron su degradación en la primera hora.

5.3.2.3 Mezcla BTXs con composición B(26%),T(22%), X(52%)

En la **Figura 20** se presenta los datos experimentales obtenidos para el crecimiento de la biomasa cuando degrada una mezcla con 26% de benceno, 22% de tolueno y 52% de xileno (**Figura 22**) y su ajuste al modelo “SKIP” (línea continua).

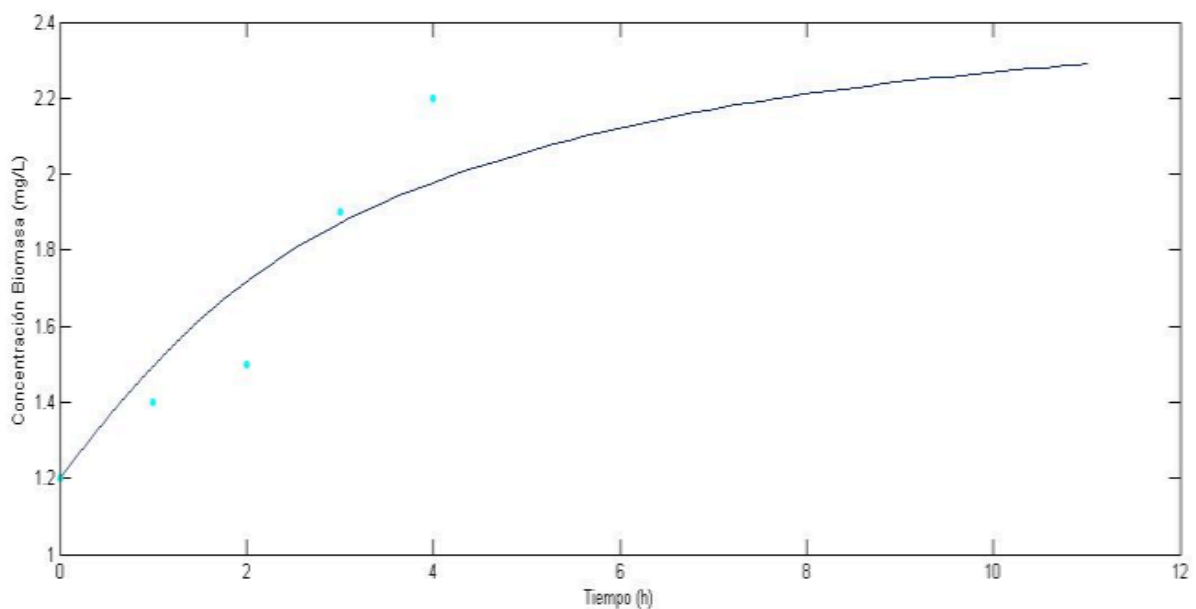


Figura 20. Datos experimentales y ajuste modelo SKIP para la biomasa. Mezcla BTXs con composición B(26%),T(22%), X(52%)

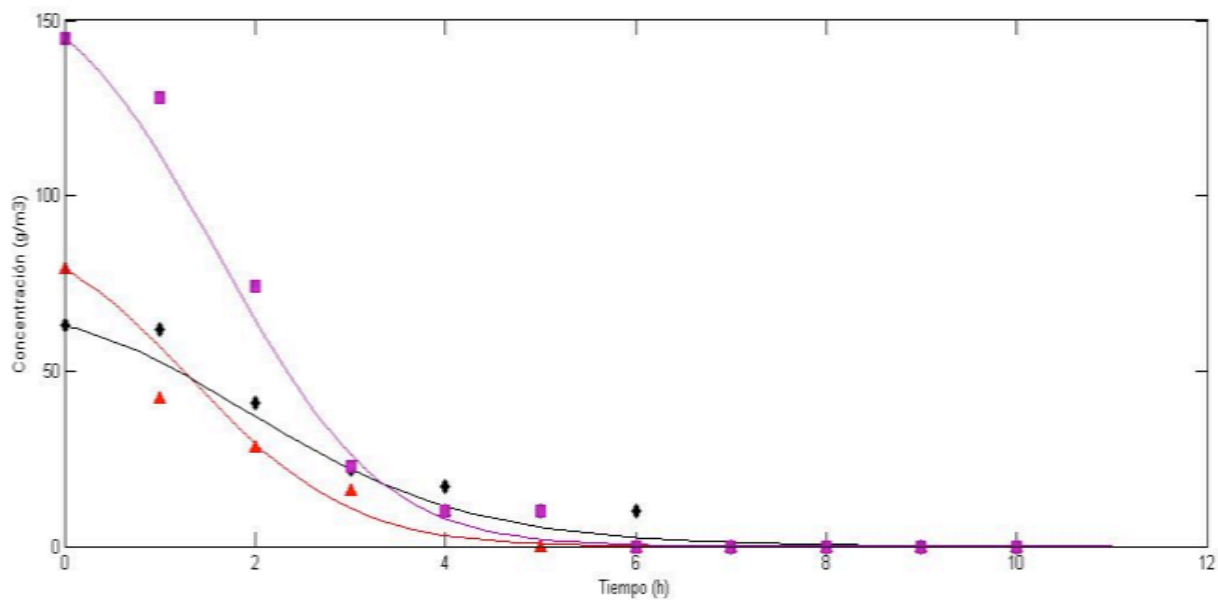


Figura 21. Datos experimentales y ajuste al modelo "SKIP" Sustratos. Mezcla BTXs con composición B(26%),T(22%), X(52%). Benceno ▲ Tolueno. ◆ Xileno. ■

Las correlaciones tanto para la biomasa como para los sustratos presentes en la mezcla se presentan en la tabla 19, adicionalmente se muestran la constante de velocidad de crecimiento para la biomasa y las constantes de degradación de los contaminantes calculadas asumiendo una cinética de primer orden.

Tabla 19. Correlaciones al modelo “SKIP” para la mezcla de composición B(26%), T(22%), X(52%)

		Correlación (R^2)	Constante de velocidad (h^{-1})
Biomasa		0,84	0,16
Sustrato	Benceno	0,95	0,53
	Tolueno	0,96	0,31
	Xileno	0,98	0,64

Cuando el xileno fue el compuesto predominante (52%), la biomasa permaneció por debajo del crecimiento ajustado por el modelo hasta la segunda hora, a la tercera hora la concentración de la biomasa se igualó a la curva del modelo y en la cuarta hora alcanzó una concentración máxima 2,2 mg/L .

El xileno que fue el contaminante predominante en la mezcla (52%) estudiada se degradó completamente desde su concentración inicial de 150 g/m³ en 6 horas. El benceno fue el primero en degradarse alcanzando su concentración mínima en 5 horas. En esta mezcla ocurre un fenómeno interesante y es que la presencia del xileno en grandes cantidades retarda el comienzo de la degradación del tolueno, el cual a pesar de su baja concentración inicial comparado con los otros compuestos (62 g/m³) tardó 7 horas en degradarse completamente. Para este caso la

constante de velocidad más alta fue para el xileno y la más baja fue para el tolueno que como ya se expresó incluso retardó su degradación.

5.3.2.4 Mezcla BTXs: EQUIMOLAR

En la **Figura 22** se presenta los datos experimentales obtenidos para el crecimiento de la biomasa cuando degrada una mezcla de BTX equimolar (**Figura 23**) y su ajuste al modelo “SKIP” (línea continua).

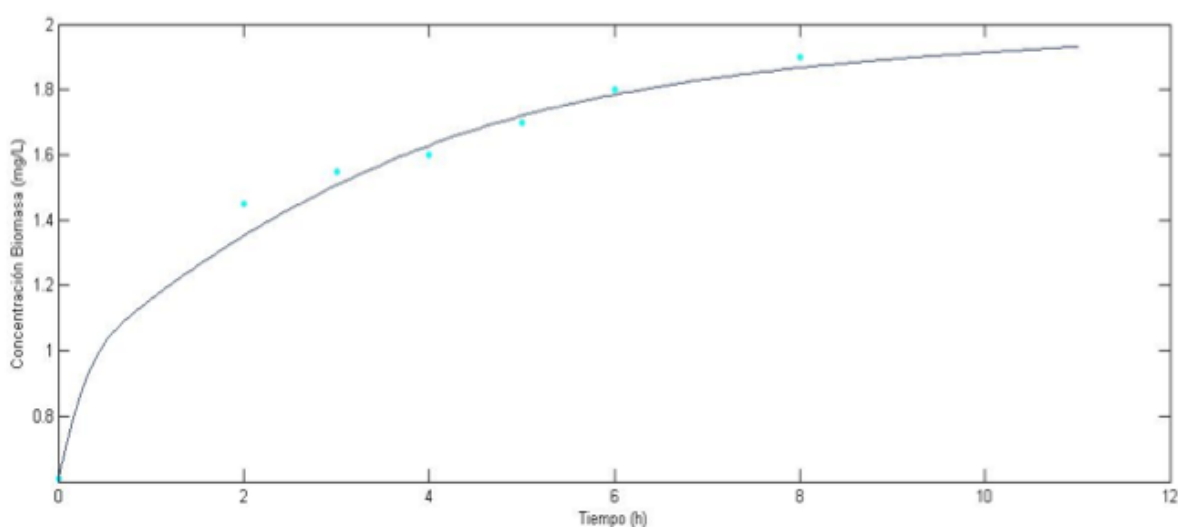


Figura 22. Datos experimentales y ajuste modelo “SKIP” para la biomasa. Mezcla BTXs equimolar

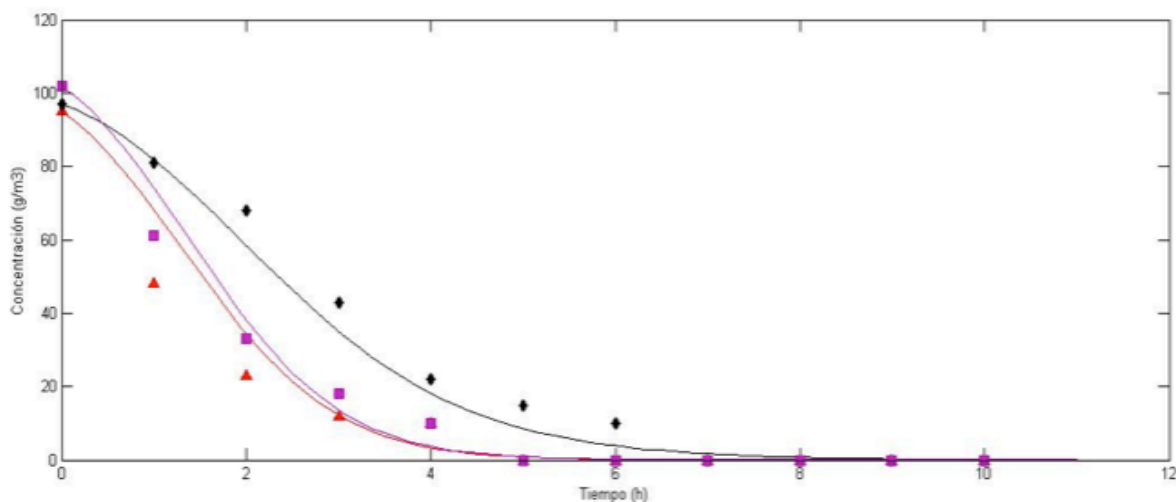





Figura 23. Datos experimentales y ajuste al modelo “SKIP” Sustratos. Mezcla BTXs equimolar. Benceno  , Tolueno  , Xileno 

Las correlaciones tanto para la biomasa como para los sustratos presentes en la mezcla se presentan en la **Tabla 20**, donde también se presentan las constantes de velocidad calculadas.

Tabla 20. Correlaciones al modelo SKIP mezcla BTX equimolar

		Correlación (R ²)	Constante de velocidad (h ⁻¹)
Biomasa		0,987	0,05
Sustrato	Benceno	0,93	0,61
	Tolueno	0,98	0,39
	Xileno	0,97	0,57

Cuando no hay predominancia de ninguno de los contaminantes, la biomasa permaneció ajustada a la curva presentada por el modelo, ligeramente por encima en algunas horas, especialmente las iniciales, la concentración máxima fue de 1,9 mg/L alcanzado en la octava hora.

Cuando las proporciones en la mezcla fueron iguales el contaminante que tardó más en degradarse fue el tolueno en un periodo de 7 horas (constante más baja de velocidad) los otros dos contaminantes se degradaron en 5 horas, el benceno presentó la mayor constante de velocidad.

5.3.2.5 Influencia de la interacción de los compuestos en la biodegradación de las mezclas de BTXs

En la **Tabla 21** se resumen los resultados para las diferentes proporciones de mezcla. Los parámetros de interacción se arrojaron en la programación del modelo “SKIP”.

Tabla 21. Principales resultados del modelo de mezcla “SKIP”

Proporción	Concentración Biomasa máx		Concentración inicial (g/m ³)			Constante de velocidad de degradación (h ⁻¹)			Parametro de interacción I _{1,2}	
	Valor (mg/L)	Tiempo	B	T	X	B	T	X	Mayor	Menor
B(51%) T(22%) X(27%)	2,7	6	16 2	72	82	0,62	0,36	0,53	XT 3,8	TX -0,5
B(21%) T(55%) X(24%)	2,2	5	62	160	72	0,45	0,41	0,46	BT 3,5	TX -0,75
B(26%) T(22%) X(52%)	2,2	4	80	62	148	0,53	0,31	0,64	XT 4,4	TX -0,05
Equimolar	1,9	8	97	98	101	0,61	0,39	0,57	XT 1,9	TX 0,3

En los resultados se observa que cuando en la mezcla el benceno fue el predominante B(51%) se alcanzó el mayor crecimiento de biomasa, esto se atribuye a que este contaminante no tiene la influencia del xileno en la degradación del tolueno, lo que permite que el inoculo utilice mejor los 3 sustratos disponibles como fuente de carbono y energía. En la mezcla en proporciones iguales la biomasa permaneció en crecimiento por más tiempo. Sin embargo, fue el de menor crecimiento.

Al mezclar los contaminantes en forma equimolar el contaminante que más se afecta, por la presencia de los otros dos, es el tolueno. En las degradaciones en sustratos individuales fue el que tuvo la mayor tasa de crecimiento, no obstante los parámetros de interacción muestran que tanto el xileno como el benceno pueden influir en esta tasa, convirtiéndolo en el contaminante que más tiempo tardó en degradarse en todas las proporciones de mezcla utilizadas, pues su constante de velocidad siempre fue la menor y los parámetros de interacción arrojados por el modelo que afectan al tolueno son siempre mayores.

Cuando el benceno estuvo predominante en la mezcla (51%), la velocidad de degradación del tolueno disminuyó en un 21% y la del xileno en un 7% con respecto a sus valores cuando la mezcla fue equimolar, mientras que la constante del benceno se aumentó en 1,6%. Por su parte, cuando el tolueno fue predominante (55%), la constante de degradación del benceno disminuyó en un 26% y la del xileno en un 19% con respecto a sus valores cuando la mezcla fue equimolar, mientras que la constante del tolueno se aumentó en 5%.

Por otro lado, teniendo al xileno predominante en la mezcla (52%), la constante de degradación del benceno disminuyó en un 13% y la del tolueno en un 8% con respecto a sus valores cuando la mezcla fue equimolar, mientras que la constante del xileno se aumentó en 12%.

Las constantes de velocidad, por tanto, siempre aumentan para el contaminante que se encuentra en concentración predominante en la mezcla y disminuyen para

los otros dos contaminantes. Por tanto, los microorganismos degradan con más rapidez el contaminante si este se encuentra en exceso en el sistema. Lo anterior ha sido afirmado por diversos autores entre los que se encuentra Xiaolin Wang & Deshusses (2007), quienes concluyeron que las interacciones entre sustratos puede alterar las tasas de degradación obtenidas en la degradación de los contaminantes individuales, ya sea de forma sinérgica o antagónica.

El compuesto que más aumentó su constante de velocidad fue el xileno, consecuente con los parámetros de interacción que lo afectan (siempre menores).

Los datos experimentales para los sustratos en mezcla a las diferentes proporciones evaluadas se ajustaron mejor (mayores coeficientes de correlación) al modelo “SKIP” en la concentración inicial más alta. Esto comprueba que este modelo se ajusta mejor a concentraciones altas reportado por Grady et al. (1996) y reafirmado por Reardon et al., (2000) quienes concluyeron que la relación entre S_0/X_0 más alta era la que debía evaluarse dado que brindaría la mejor correlación. En la presente tesis se utilizó siempre la misma concentración de biomasa, por tanto la relación solo depende de la concentración inicial de sustrato.

Los parámetros de interacción resultantes del presente estudio están acordes con los reportados por algunos autores, no obstante, no se encontró ningún estudio donde se muestre la influencia de diferentes proporciones de mezcla usadas. Lo obtenido en este estudio coincide con lo encontrado por Reardon et al., (2000) quienes evaluaron diferentes modelos (inhibición no competitiva, acompetitiva, competitiva y “SKIP”) encontró que el modelo “SKIP” proporcionó la mejor descripción de los resultados de parejas de sustrato. El modelo que igualmente trabajó con parámetros determinados de sustratos individuales, suministró una excelente predicción de la cinética de biodegradación para las mezclas de 3 componentes.

En la **Tabla 22** se muestran parámetros de interacción entre sustratos en mezcla

modelados con “SKIP” encontrados en la literatura.

Comparado con los estudios existentes para la modelación de degradación de sustratos individuales (BTX) los estudios en mezcla (BTXs) son pocos, además en otros reportes las interacciones de los sustratos en mezclas se reportan pero no se modelan (Arvin et al., 1989, Smith, 1990)

Los autores Song et al., (2012) utilizaron el modelo “SKIP” para una mezcla de sustratos encontrando que el mayor parámetro de interacción fue I_{xt} (que indica como la presencia del tolueno afecta la biodegradación del xileno) y el menor fue el que determinó que existía una baja relación entre la presencia del tolueno y la degradación del benceno, resultados similares encontraron Trigueros et al., (2010) en sus experimentos.

Tabla 22. Resultados de los parámetros de interacción I_{xt} en la literatura para mezclas

Mezcla utilizada	Parámetros	Referencia
Bi-componente		(Feisther et al., 2015)
Tolueno	$I_{tx} = -0,05$	
Xileno	$I_{xt} = 5,4$	
Tri-componente		(Song, et al., 2012)
Benceno	$I_{T,B} = 0,2, I_{X,B} = 0,3$	
Tolueno	$I_{B,T} = 3,8, I_{X,T} = 3,9$	
P-xileno	$I_{B,X} = 0,7, I_{T,X} = 0,7$	

Multi-componente		(Trigueros et al., 2010)
Benceno	$I_{tb} = 1, I_{eb} = 10, I_{xb} = 0.007$	
Tolueno	$I_{bt} = 0,0023, I_{et} = 4,5, I_{xt} = 1,7$	
Xileno	$I_{bx} = 1,10, I_{tx} = 0,0005, I_{ex} =$	
Etil-benceno	$7,075$ $I_{be} = 0.175, I_{te} = 0.025, I_{xe} =$ $0,10$	
Multi-componente		(Littlejohns & Daugulis, 2008)
Benceno, Tolueno, Etilbenceno, O-Xileno	$I_{T,B} = -0.4, I_{E,B} = 4, I_{X,B} = -0.7$	
Bi-componente		(Reardon et al., 2000)
Benceno	$I_{T,B} = 5$	
Tolueno	$I_{B,T} = 0,01$	

Los datos correspondientes a la concentración de biomasa en todas las proporciones de mezclas solo se tomaron en la fase de crecimiento exponencial. Desde el último dato experimental reportado hasta la última hora de muestreo la concentración de biomasa empezó a descender en el tiempo. Esta debilidad es común a todos los estudios cinéticos pues solo modelan la fase de crecimiento exponencial en la biomasa (Mudliar et al., 2010).

5.3.2.6 Determinación del grado de interacción competitiva entre sustratos

Hipotesis inicial “Las interacciones entre los contaminantes estudiados son puramente competitivas”

En la **Tabla 23** se exponen los valores esperados iguales para todas las proporciones de mezcla y los valores observados obtenidos con la modelación en Matlab. Adicionalmente, en esta tabla se reportan los valores de χ^2 y de p calculados.

Tabla 23. Comparación estadística entre los modelos

		B(51%) T(22%) X(27%)	B(51%) T(22%) X(27%)	B(51%) T(22%) X(27%)	Equimolar
	esperado	Observado. Grados libertad=5			
TB	1,95	0,1	1,7	0,4	0,8
XB	2,57	0,12	0,1	0,13	0,11
BT	0,51	0,5	3,5	1,5	1,2
XT	1,32	3,8	2,4	4,4	1,9
BX	0,39	0,3	0,35	0,25	0,15
TX	0,76	-0,5	-0,75	-0,05	0,3
Chi²		10,86	23,70	13,55	4,64
p		0.0434	0.0002	0.0187	0.4620

En Las mezclas donde hubo predominancia de alguno de los contaminantes los valores de los parámetros de inhibición son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$)

entonces sus interacciones no son puramente competitivas (se rechaza la hipótesis) Por el contrario en la mezcla con proporciones iguales los resultados no son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia del 95% este valor de p ($p > 0,05$) permite solamente no rechazar la hipótesis más no comprobarla.

Hay otros casos reportados en que las interacciones entre los sustratos que son homologos no son puramente competitivas, por ejemplo Oh et al. (1994) encontró que el consumo de benceno fue inhibido por la presencia del tolueno a un grado mayor que lo previsto en el caso de que fuera una inhibición puramente competitiva.

5.3.3 Incidencia de los parámetros cinéticos encontrados en el diseño de un reactor a escala real

Para determinar el volumen del reactor es necesario tener en cuenta los balances de materia tanto global como de biomasa y de sustrato en el reactor. En el balance de masa global se tiene que:

Masa de Entrada – Masa de Salida = Acumulación de Masa, representado en la **Ecuación 15**

$$F_e \cdot \rho_e - F_s \cdot \rho_s = \frac{\partial(\rho_s \cdot V)}{\partial t} \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde ρ_e, ρ_s son las densidades de entrada y salida, como supuestos las densidades permanecen constantes $\rho_e = \rho_s$, el sistema operará en estado estacionario y por tanto no hay acumulación

$$\frac{\partial(\rho_s \cdot V)}{\partial t} = 0$$

Así:

$$F_e = F_s = F$$

Donde F_e y F_s son los flujos volumetricos de entrada y salida.

En el balance de biomasa:

Celulas entran-Células salen+crecimiento celular- Muerte celular= Acumulación

$$F \cdot x_o - F \cdot x + \mu \cdot x \cdot V - \alpha \cdot x \cdot V = \frac{\partial(x \cdot V)}{\partial t} = X \frac{\partial V}{\partial t} + V \frac{\partial x}{\partial t} \quad \text{Ecuación 16}$$

Donde:

x_o = Concentración de biomasa a la entrada

x = concentración de biomasa dentro del reactor

μ = Velocidad de crecimiento de los microorganismos (h^{-1})

α = Velocidad de muerte de los microorganismos (h^{-1})

Supuestos:

Alimentación estéril: $x_o=0$

El volumen es constante por tanto $\frac{\partial V}{\partial t} = 0$

No hay acumulación por tanto $\frac{\partial x}{\partial t} = 0$

Entonces:

$$-F \cdot x + \mu \cdot x \cdot V - \alpha \cdot x \cdot V = 0$$

Un supuesto adicional es que la tasa de muerte es inferior a la tasa de crecimiento

$$\alpha \ll \mu$$

$$-F \cdot x + \mu \cdot x \cdot V = 0$$

Reordenando

$$F \cdot x = \mu \cdot x \cdot V$$

Luego

$$F = \mu \cdot V$$

Dividiendo por V se obtiene la **Ecuación 17**

$$F/V = \mu \quad \text{Ecuación 17}$$

En este caso el balance de sustrato no se realizó pues los parámetros cinéticos obtenidos son aplicables en el balance de biomasa ya especificado.

Para evaluar las relaciones que se tienen se debe especificar el modelo de crecimiento utilizado.

Modelo de Monod:

$$\mu = \frac{\mu_{m\acute{a}x} \cdot S}{K_s + S}$$

Remplazando el valor de μ en la **Ecuación 17** se obtiene que :

$$F/V = \frac{\mu_{m\acute{a}x} \cdot S}{K_s + S} \quad \text{Ecuación 18}$$

Con la **Ecuación 18** se observa que si se mantienen constantes los otros parámetros, al aumentar el valor de $\mu_{m\acute{a}x}$ disminuirá el volumen del reactor a diseñar y lo contrario ocurrirá si se disminuye el valor de $\mu_{m\acute{a}x}$. Por otro lado, al aumentar el valor de K_s el volumen requerido será mayor y si se disminuye el reactor será mas pequeño.

Modelo de Haldane:

$$\mu = \frac{\mu^* \cdot S}{K_h + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

Remplazando el valor de μ en la **Ecuación 17** se obtiene que :

$$F/V = \frac{\mu^* \cdot S}{K_h + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

Ecuación 19

De la Ecuación 19 se tiene que si se tienen constantes los otros parámetros un incremento en el valor de μ^* resultara en un menor volumen de reactor y una disminución en el valor de ese parámetro aumentará el volumen del biofiltro. Por otro lado aumentar el valor de K_h aumentaría el volumen del reactor. En cuanto al coeficiente de inhibición si lo incremento el valor $\frac{S^2}{K_i}$ se hará menor y por tanto el valor del denominador disminuirá y con esto el valor de $\frac{\mu^* \cdot S}{K_h + S + \frac{S^2}{K_i}}$ se hará más grande y por tanto el volumen del reactor será menor.

Utilizar el modelo adecuado, con los parámetros cinéticos obtenidos por tanto permite diseñar más eficientemente los biofiltros percoladores, cuando el modelo utilizado no se ajusta adecuadamente al crecimiento en el interior del bioreactor el diseño puede sobre o subdimensionarse, con un posible aumento de costos o disminución de eficiencia esperada.

6 CONCLUSIONES

-Los resultados y conclusiones obtenidos en el presente proyecto brindan un aporte al conocimiento en cuanto al comportamiento cinético de la biodegradación de vapores BTXs, que puede utilizarse para la comprensión de los procesos que ocurren al interior de los biofiltros y son una herramienta de importancia para su diseño.

-El lodo utilizado como inóculo mostró una adaptación rápida a los contaminantes en estudio (BTXs), mediante el protocolo establecido para su aclimatación en 37 días el inóculo llegó al estado estacionario .

- Los parámetros cinéticos están distribuidos en un amplio rango en la literatura pues son dependientes de circunstancias específicas, entre estos, el tipo de célula y las condiciones de los microorganismos. Adicionalmente, grandes variaciones se derivan de la procedencia del cultivo, el método usado para determinar los parámetros, las correlaciones entre los parámetros, y la naturaleza no lineal de los modelos. No obstante, los parámetros estimados en este estudio son similares a los obtenidos por otros autores que han investigado la biodegradación de los compuestos BTXs, lo que verifica la fiabilidad del procedimiento utilizado.

- El modelo de Haldane fue el más adecuado para describir el comportamiento del inóculo degradando los contaminantes BTXs, debido principalmente a las altas concentraciones de sustrato utilizadas; para esas concentraciones las tasas de crecimiento los microorganismos degradando BTXs fueron significativas. Esto sugiere a estudios posteriores descartar el modelo de Monod para estudiar la cinética cuando se tiene una concentración alta de contaminante (>120 mg/L).

- Los compuestos BTXs al alcanzar ciertas concentraciones iniciales pueden inhibir la actividad microbiológica. Los umbrales de inhibición se determinaron: Tolueno: 154 mg/L, Benceno: 190 mg/L y Xileno 135 mg/L. El parámetro de

inhibición presente en la ecuación de Haldane permite que los datos experimentales se ajusten más a él, pues los estudios se realizaron a concentraciones mayores que las inhibitorias.

-La tasa específica de crecimiento más alta fue la obtenida por el tolueno. Este contaminante ha sido identificado como el más fácilmente biodegradable entre los 3 compuestos en estudio. Esto ocurre por la estructura del tolueno caracterizada por la presencia del grupo sustituto en el anillo que ofrece una ruta alternativa de ataque en la cadena lateral.

-A pesar de que comúnmente se encuentran los contaminantes en mezcla, donde se dan fenómenos de inhibición entre ellos y el crecimiento microbiano se contraresta, el número de estudios en modelación matemática para la degradación de mezclas está todavía limitado comparado con los realizados para sustratos solos.

-El modelo "SKIP" se ajustó más a los datos obtenidos experimentalmente en las concentraciones más altas de sustrato. Este modelo sugiere que las interacciones entre los sustratos no son específicas y son más complejas que las establecidas por los otros modelos cinéticos propuestos, a pesar de que los contaminantes evaluados se consideran homólogos

- Se comprobó que el inóculo está preparado para degradar cualquiera de los contaminantes, en proporciones diferentes hasta concentraciones máximas de 160 g/m³. Cuando los sustratos se encuentran en mezcla, los microorganismos degradan más rápidamente el sustrato que se ponen predominante en la mezcla aumentando su constante de velocidad, esto se debe a la mayor disponibilidad para los microorganismos.

-La biodegradación del tolueno fue afectada por la presencia de los otros contaminantes convirtiéndose en el compuesto que más tardó en degradarse en las mezclas sin importar la proporción utilizada a pesar de que en los sustratos

individuales obtuvo la mayor tasa de degradación. Por tanto hay una interacción antagónica donde el xileno y el benceno por ser compuestos más tóxicos retardan la degradación del tolueno.

7 LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES

-En la fase de aclimatación del lodo, el crecimiento de biomasa pudo haber alcanzado valores más altos con la adición de una concentración mayor de contaminantes. Se recomienda para estudios posteriores aumentar las dosis para así determinar el crecimiento máximo posible en la biomasa.

-Se sugiere identificar la variabilidad del inoculo utilizado y conocer otras condiciones experimentales, ejemplo la temperatura con el fin de fundamentar mejor los parámetros cinéticos estimados.

-Después de inyectar el sustrato en cada botella sería adecuado, según Lin & Cheng, (2007), mantenerlas agitadas por un periodo de 12 horas esto con el fin de equilibrar el headspace con la solución.

El procedimiento utilizado para la realización del estudio cinético (cultivos líquidos en reactores operando en batch) presenta limitaciones

- Necesita operaciones previas para la aclimatación de la biomasa, proceso que tiene una duración importante en este caso aproximadamente 52 días
- No representa necesariamente el crecimiento en el medio real que use el biofiltro, en el cual más probablemente se desarrolle un consorcio mayor de microorganismos interactuando entre ellos.
- No refleja las restricciones de transferencia de masa existentes en los biofiltros.

-Para futuros estudios se recomienda el uso de otros protocolos para determinación de los parámetros cinéticos, por ejemplo utilizar directamente biomasa inmovilizada en el medio de soporte utilizado en el biofiltro. Entre las características más interesantes de este procedimiento se encuentra que: (1) es fácil de operar) no se necesita realizar un tratamiento previo a las muestras de biomasa y (2) que brinda parámetros reproducibles, que representan el caso real de un biofiltro más adecuadamente que los cultivos líquidos.

-Para la modelación de la cinética de los sustratos en mezcla se recomienda la compresión completa de las interacciones entre ellos esto se logra estudiando en profundidad las vías metabólicas de los microorganismos (El-Naas et al., 2014), esto no estuvo al alcance de la presente investigación, sin embargo se pone de manifiesto para su estudio en futuras modelaciones.

-La confiabilidad de los resultados obtenidos por la linealización de los modelos es proporcional al número de datos experimentales disponibles, se recomienda en posteriores investigaciones aumentar el número de datos utilizados.

-No se deben descartar otros modelos cinéticos que sugieran interacciones específicas entre los sustratos (acompetitiva, no competitiva) pues no se evaluaron en el presente estudio. Antes de aplicar un modelo cinético sería ideal conocer con exactitud las interacciones dadas entre los sustratos presentes en la mezcla.

8 ANEXOS

8.1 PROTOCOLO DE “BRADFORD” PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA

La concentración de la biomasa se determinó utilizando el método de “Bradford”, un método colorimétrico usado para la determinación de la concentración de proteínas en una solución. Considerando una relación media del 50% (concentración de proteínas/concentración de biomasa) permite obtener el crecimiento de biomasa en los reactores. Se mide la absorbancia mediante el espectrofotómetro, disponible en el laboratorio de Química Ambiental. El protocolo utilizado para el método de “Bradford” se encuentra descrito a continuación (Fernández & Galván, 2006; Bradford, 1976)

El método de “Bradford” se basa en el uso de un colorante hidrofóbico cuyas disoluciones acuosas en presencia de ácido fosfórico tienen un color pardo y que, al encontrarse en el entorno hidrofóbico del interior de una proteína, origina un color azul intenso que se puede medir; por tanto es dependiente de la interacción relativamente inespecífica entre un colorante hidrofóbico y las proteínas

8.1.1 Preparación Reactivo de “Bradford”

Los componentes se mezclaron en el orden indicado en la **Tabla 24**, se disolvieron con agitación durante un minuto y la mezcla obtenida se filtró. El reactivo se almacenó en el cuarto frío.

Tabla 24. Componentes Reactivo “Bradford”

Componente	Cantidad
Azul de Coomasie G-250	5 mg
Etanol	2,5 mL
Ácido Fosforico	5 mL
Agua	Hasta 50 mL

8.1.2 Curva de Calibrado

Para utilizar el método debe prepararse una curva de calibrado empleando una proteína patrón, en este caso se utilizó la seroalbúmina bovina. Para preparar el patrón se disolvieron 10 mg de albúmina bovina en 10 ml de agua destilada, con lo que se obtuvo una disolución madre con una concentración de 1 mg/ml. La curva se preparó en un rango de 0-60 µg. Se aseguró un volumen final en cada tubo sea de 300 µl. Para ello se mezcló el volumen adecuado de la disolución madre de albúmina bovina de un 1 mg/ml y el correspondiente volumen necesario de agua, de acuerdo con la **Tabla 25**

Tabla 25. Preparación Curva de Calibrado

µg(Proteína)	0	10	20	30	40	50	60
µl (albumina)	0	10	20	30	40	50	60
µl (agua dest.)	300	290	280	270	260	250	240

µl Total	300	300	300	300	300	300	300
-----------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Se añadieron 3 ml del reactivo de “Bradford” a los tubos que contenían la albúmina. Se agitaron utilizando un vortex y a continuación se procedió a la lectura de la absorbancia a 595 nm en el colorímetro obteniéndose los datos presentados en la **Tabla 26**

Tabla 26. Datos de absorbancia patrón de Albumina

Absorbancia (nm)	Proteína (µg)
0	0
0,166	10
0,398	20
0,598	30
0,892	40
1,151	50
1,349	60

Se graficaron los datos obtenidos anteriormente y se realizó una regresión lineal obteniéndose la **Figura 24**.

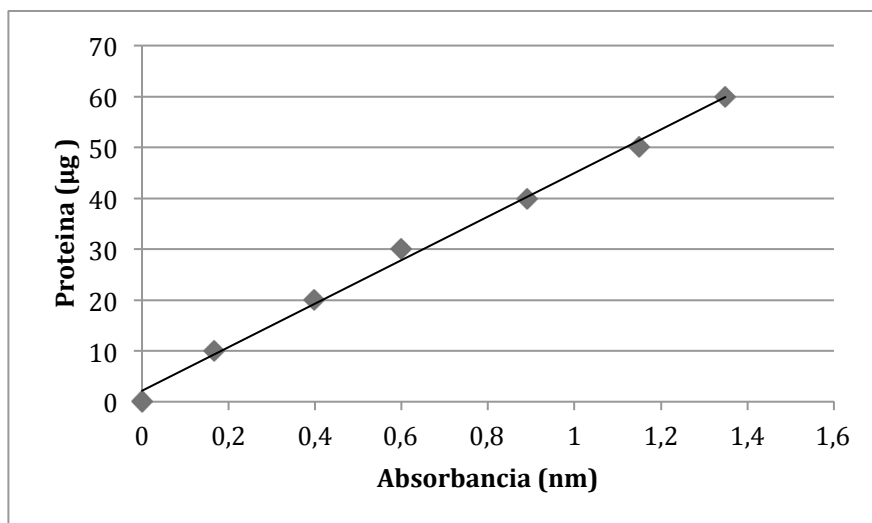


Figura 24. Curva de Calibrado

La recta obtenida con la regresión lineal se ajusta a la ecuación 15

$$y = 42,804x + 2,1531 \quad \text{Ecuación 15}$$

Con un coeficiente de correlación de:0,99534

8.1.3 Preparación de diluciones de las muestras de inóculo

Cada hora se extrajo de cada una de las botellas 100 microlitros de muestra con el fin de cuantificar la biomasa. Estos se diluyeron con 400 microlitros de agua destilada y se agitaron utilizando un vortex. De la dilución obtenida se tomaron 100 microlitros llevándose a otro tubo y completándose con 200 microlitos de agua destilada. El blanco se obtuvo utilizando en el tubo 300 microlitros de agua destilada. A los tubos se les añadió 3 mL de reactivo de Bradford previamente preparado, se agitó con el vortex se hizo la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en el colorímetro.

Con la curva de calibración se obtuvo la concentración de proteínas utilizando los datos obtenidos de absorbancia, en los cálculos se tuvieron en cuenta las

diluciones hechas y para la obtención del valor de biomasa se utilizó la relación 2:1 citada por M.-C. Delhoménie et al., (2008).

8.2 TÉCNICA DE “HEADSPACE”

Para determinar la concentración de los contaminantes en los reactores, se tomaron muestras gaseosas en el headspace utilizando jeringas para gases de 5 mL, las muestras obtenidas se almacenaron en viales con capacidades entre 10 y 20 mL que se mantuvieron al vacío. Una vez en los viales, se extrajo una muestra para analizar utilizando cromatografía de gases.

Se utilizó un Cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (FID) Shimadzu 14B, equipado con una columna ATTM -1 de polidimetilsiloxano, no polar, semicapilar. El gas de arrastre utilizado fue el nitrógeno, la temperatura de la columna se mantuvo constante a 1500°C, y las temperaturas del inyector y detector fueron de 160°C y 220°C respectivamente.

Las muestras se tomaron en el headspace considerando que después de establecido el equilibrio entre las fases del sistema (líquido y gas), existe una relación entre la concentración en el gas y la concentración en el líquido dada por la constante de Henry

8.3 CONCENTRACIONES MEDIDAS EN EL “HEADSPACE”

8.3.1 Fase aclimatación

En la **Tabla 27** se presentan las concentraciones iniciales en el headspace en la fase de aclimatación y en la **Tabla 28** se reportan las concentraciones máximas alcanzadas en el headspace para esta misma fase.

Tabla 27. Concentraciones iniciales en el “Headspace” para la fase de aclimatación

Reactor	[Benceno] (mg/L)	[Tolueno] (mg/L)	[Xileno] (mg/L)
1	0,485	0,438	0,482
2	0,527	0,407	0,522
3	0,498	0,392	0,457
4	0,478	0,369	0,518

Tabla 28. Concentraciones máximas en el Headspace alcanzadas en la aclimatación

Reactor	[Benceno] (mg/L)	[Tolueno] (mg/L)	[Xileno] (mg/L)
1	4,208	3,448	3,747
2	3,632	3,425	3,649
3	4,156	3,386	3,478
4	4,228	3,371	3,760

8.3.2 Estudio cinético

En la **Tabla 29** se muestran las concentraciones iniciales obtenidas en el headspace para cada una de las corridas del estudio cinético.

Tabla 29. Concentraciones iniciales en el “Headspace” para las 4 corridas realizadas

	Corrida 1			Corrida 2			Corrida 3			Corrida 4		
	[B]*	[T]	[X]	[B]	[T]	[X]	[B]	[T]	[X]	[B]	[T]	[X]

Reactor 1	-	41	-	-	68	-	-	305	-	-	129	-
Reactor 2	53	-	-	125	-	-	404	-	-	186	-	-
Reactor 3	-	-	31	-	-	79	-	-	299	-	-	135
							Reactor 4			162	72	82
							Reactor 5			62	160	72
							Reactor 6			80	62	148
							Reactor 7			97	98	101

*Las concentraciones están dadas en (mg/L)

9 REFERENCIAS

- Aamand, J., Jørgensen, C., Arvin, E., & Jensen, B. K. (1989). Microbial adaptation to degradation of hydrocarbons in polluted and unpolluted groundwater. *Journal of Contaminant Hydrology*. doi:10.1016/0169-7722(89)90030-2
- Abuhamed, T., Bayraktar, E., Mehmetoğlu, T., & Mehmetoğlu, Ü. (2004). Kinetics model for growth of *Pseudomonas putida* F1 during benzene, toluene and phenol biodegradation. *Process Biochemistry*, 39(8), 983–988. doi:10.1016/S0032-9592(03)00210-3
- Acuna, Perez, Auria, & Revah. (1999). Microbiological and kinetic aspects of a biofilter for the removal of toluene from waste gases. *Biotechnology and Bioengineering*, 63(2), 175–184. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10099594>
- Alagappan, G., & Cowan, R. M. (2004). Effect of temperature and dissolved oxygen on the growth kinetics of *Pseudomonas putida* F1 growing on benzene and toluene. *Chemosphere*, 54(8), 1255–1265. doi:10.1016/j.chemosphere.2003.09.013.
- Andrews J. (1968). A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnol. Bioeng.*, 10: 707-723.
- Andrews, J., & Graef, S. (1971). Dynamic Modeling and Simulation of the Anarobic Digestion Process. *Advances in Chemistry*, 105, 126–162.
- Arcangeli, J.-P., & Arvin, E. (1999). Modeling the growth of a methanotrophic biofilm: estimation of parameters and variability. *Biodegradation*, 10, 177–191.
- Arriaga, S. (2006). Bioreactores para la degradación de compuestos orgánicos volátiles (COV). In *III Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia*. San Luis Potosí.
- Benitez, M.T. (2014). La contaminación atmosférica causa 7 millones de muertes prematuras en todo el Mundo. ABC. Ginebra. Retrieved from

<http://www.abc.es/sociedad/20140325/abci-contaminacion-aire-muertes-prematuras-201403251109.html>

- Bertola, N., & Contreras, E. (2007). Cinética de las Reacciones Biológicas. In B. N. chmidell W., Soares H.M., Echeberrere C., Menes R.J. (Ed.), *Tratamiento Biológico de Águas Residuales* (1ra ed., pp. 217–242). Tribo da Ilha.
- Bielefeldt, a. R., & Stensel, H. D. (1999). Modeling competitive inhibition effects during biodegradation of BTEX mixtures. *Water Research*, 33(3), 707–714. doi:10.1016/S0043-1354(98)00256-5
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–54. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/942051>
- Caicedo, C., & Guerrero, C. (2011). *Biodegradación de Vapores de Xileno Mediante un Biofiltro Percolador*. Universidad del Valle.
- Cárdenas, B., Revah, S., & Hernández, J. (2003). Tratamiento biológico de compuestos orgánicos volátiles de fuentes fijas. *INE-Semarnat, México*, 62. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Tratamiento+biológico+de+compuestos+orgánicos+volátiles+de+fuentes+fijas#0>
- Chang, M.-K., Voice, T. C., & Criddle, C. (1993). Kinetics of competitive inhibition and cometabolism in the biodegradation of benzene, toluene, and p-xylene by two Pseudomoms isolates. *Biotechnology and Bioengineering*, 41, 1057–1065.
- Chavez, M. P. (2004). *Determinación Del Coeficiente De Transferencia De Oxígeno En Aguas Residuales Como Parámetro Para El Dimensionamiento Del Equipo De Aireación De Un Biodigestor Aeróbico*. Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Darvin, C., & Serageldin, M. (2003). *USING BIOREACTORS TO CONTROL AIR POLLUTION*. *nepis.epa.gov*. Virginia. Retrieved from <http://nepis.epa.gov/Adobe/PDF/P1005HH8.pdf>
- Davidson, C. T., & Daugulis, A. J. (2003). Addressing biofilter limitations: A two-phase partitioning bioreactor process for the treatment of benzene and toluene contaminated gas streams. *Biodegradation*, 14(6), 415–421. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1027363526518>
- Deeb, R.A, Alvarez-Cohen. L.A. (1999) *Temperature effects and substrate interactions during the aerobic biotransformation of BTEX mixtures by toluene-enriched consortia and Rhodococcus rhodochrous*, *Biotechnology and Bioengineering* 62. 526–36
- Delhoménie, M. C., & Heitz, M. (2005). Biofiltration of Air: A Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25, 53–72.
- Delhoménie, M.-C., Nikiema, J., Bibeau, L., & Heitz, M. (2008). A new method to determine the microbial kinetic parameters in biological air filters. *Chemical Engineering Science*, 63(16), 4126–4134. doi:10.1016/j.ces.2008.05.020
- Ellis, T.G. Barbeau, D.S. Smets, B.F.(1996). Respirometric technique for determination of extant kinetic parameters describing biodegradation, *Water Environment Research* 68 (1996) 917–26. <http://dx.doi.org/10.2175/106143096X127929>
- El-Naas, M. H., Acio, J. a., & El Telib, A. E. (2014). Aerobic biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(2), 1104–1122. doi:10.1016/j.jece.2014.04.009
- EPA. (2011). Contaminantes. Retrieved April 2, 2014, from http://www.epa.gov/superfund/spanish/health/contaminantes_comunes.htm
- Feisther, V. A., Ulson de Souza, A. A., Trigueros, D. E. G., de Mello, J. M. M., de Oliveira, D., & Guelli Ulson de Souza, S. M. A. (2015). Biodegradation kinetics of benzene,

toluene and xylene compounds: microbial growth and evaluation of models. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. doi:10.1007/s00449-015-1364-0

Fernández, E., & Galván, A. (2006). *Métodos para la cuantificación de proteínas*. Departamento de Bioquímica. Córdoba. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Métodos+para+la+cuantificación+de+proteínas#1>

Gibson, D. T., & Subramanian, V. (1984). Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. In I. Marcel Dekker (Ed.), *Microbial Degradation Of organic Compounds* (pp. 181–252). New York.

González, J. (2013). *Diseño de un biodigestor de dos etapas a escala laboratorio*. Universidad de Zaragoza.

Grady, C. P. L., Smets, B. F., & Barbeau, D. S. (1996). Variability in kinetic parameter estimates: A review of possible causes and a proposed terminology. *Water Research*, 30(3), 742–748. doi:10.1016/0043-1354(95)00199-9.

Haldane, J.B.S. . (1930). *Enzymes*, Longmans Green, London, 1930.

IDEAM. (2008). Información Meteorologica Detallada. Retrieved from <http://institucional.ideam.gov.co>

IDEAM. (2012). *Informe del Estado de la Calidad del Aire en Colombia 2007-2010*. Bogotá DC.

IUPAC. (2014). *Compendio de la terminología química* (2nd ed.). Oxford. Retrieved from <http://goldbook.iupac.org/PDF/goldbook.pdf>

Izquierdo, J. F. (2004). *Cinética de las reacciones químicas*. Edicions Universitat Barcelona. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=IdJ03bLyxH4C&pgis=1>

- Jimenez, E., & Villegas, A. M. (2005). Diseño de un Sistema de Biofiltración para la Remoción de Estireno. *EIA*, 9–20. Retrieved from <http://revista.eia.edu.co/articulos3/art 1 N3.pdf>
- Jorio, H., Brzezinski, R., & Heitz, M. (2005). A novel procedure for the measurement of the kinetics of styrene biodegradation in a biofilter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80(7), 796–804.
- Kennes, C., & Veiga, M. (2013). Introduction to Air Pollution. In L. John Wiley & Sons (Ed.), *Air Pollution Prevention and Control Bioreactor and Bioenergy* (pp. 9–12).
- Kennes, C., & Veiga, M. C. (2001). *Bioreactors for Waste Gas Treatment*. (Kluwer Academic, Ed.). Dordrecht; Boston: Springer; 2001 edition. Retrieved from <http://www.amazon.com/Bioreactors-Waste-Treatment-Environmental-Pollution/dp/0792371909>
- Kim, D.-J., Choi, J.-W., Choi, N.-C., Mahendran, B., & Lee, C.-E. (2005). Modeling of growth kinetics for *Pseudomonas* spp. during benzene degradation. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 69(4), 456–462. Retrieved from 10.1007/s00253-005-1997-z
- Koutinas, M., Kiparissides, A., Lam, M.-C. Silva-Rocha, R. Godinho, M. Lorenzo V., et al (2011), Improving the prediction of *Pseudomonas putida* mt-2 growth kinetics with the use of a gene expression regulation model of the TOL plasmid, *Biochemical Engineering Journal* 55 108–18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2011.03.012>.
- Larsen. (2004). *Cost of Environmental Damage: A Socio-Economic and Environmental Health Risk Assessment*. Colombia.
- Li, H., Liu, Y. H., Luo, N., Zhang, X. Y., Luan, T. G., Hu, J. M., ... Lu, J. Q. (2006). Biodegradation of benzene and its derivatives by a psychrotolerant and moderately haloalkaliphilic *Planococcus* sp. strain ZD22. *Research in Microbiology*, 157(7), 629–636. doi:10.1016/j.resmic.2006.01.002

- Lin, C., & Cheng, Y. (2007). Biodegradation kinetics of benzene , methyl tert -butyl ether , and toluene as a substrate under various substrate concentrations, 57(August 2006), 51–57. doi:10.1002/jctb
- Littlejohns, J. V., & Daugulis, A. J. (2008). Kinetics and interactions of BTEX compounds during degradation by a bacterial consortium. *Process Biochemistry*, 43(10), 1068–1076. doi:10.1016/j.procbio.2008.05.010
- Lu, C., Chu, W., & Lin, M.-R. (2000). Removal of BTEX Vapor from Waste Gases by a Trickle Bed Biofilter. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 50(3), 411–417. doi:10.1080/10473289.2000.10464021
- Maliyekkal, S. M., Rene, E. R., Philip, L., & Swaminathan, T. (2004). Performance of BTX degraders under substrate versatility conditions, 109, 201–211. doi:10.1016/j.jhazmat.2004.04.001
- Mathur, a K., & Majumder, C. B. (2010). Kinetics Modelling of the Biodegradation of Benzene , Toluene and Phenol as Single Substrate and Mixed Substrate by Using *Pseudomonas putida*. *Chemical & Biochemical Engineering*, 24(1), 101–109.
- Mathur, A. K., Majumder, C. B., & Chatterjee, S. (2007). Combined removal of BTEX in air stream by using mixture of sugar cane bagasse , compost and GAC as biofilter media, 148, 64–74. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.02.030
- Morales, R. G. E. (2006). *Contaminación atmosférica urbana: episodios críticos de contaminación ambiental en la ciudad de Santiago*. Editorial Universitaria. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=HdeX6SWHBW8C&pgis=1>
- Monod, J. (1949). “The growth of bacterial cultures”. *Ann. Re’’. Microbiol* 3 371-394.
- Monod, J. (1950). “ La technique de culture continue theorie et applications”. *Ann. L’Institut Pasteur*. 79, 390-400.

- Mudliar, S., Giri, B., Padoley, K., Satpute, D., Dixit, R., Bhatt, P., ... Vaidya, A. (2010). Bioreactors for treatment of VOCs and odours - a review. *Journal of Environmental Management*, 91(5), 1039–54. doi:10.1016/j.jenvman.2010.01.006
- Oh, Y.-S., & Bartha, R. (1997). Construction of a bacterial consortium for the biofiltration of benzene, toluene and xylene emissions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13(6), 627–632. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1018506602004>
- Oh, Y.-S., Shareefdeen, Z., Baltzis, B. C., & Bartha, R. (1994). Interactions Between Benzene, Toluene, and p-Xylene (BTX) During Their Biodegradation. *Biotechnology and Bioengineering*, 44, 533–538.
- OMS. (2008). Calidad del Aire y Salud. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/es/>
- Pavlostathis, S., & Giraldo, E. (1991). Cinética de tratamiento anaeróbico: Una revisión crítica. *Environmental Science and Technology*, 21, 411–490.
- Potter, T. L. (1992). *Fingerprinting petroleum products: Unleaded gasolines*. Chelsea. (P. T. KostECKi & E. J. Calabrese, Eds.) *In Petroleum Contaminated Soils* (Vol. 2). Lewis Publishers.
- Rahul, Mathur, A. K., & Balomajumder, C. (2013). Performance evaluation and model analysis of BTEX contaminated air in corn-cob biofilter system. *Bioresource Technology*, 133, 166–74. doi:10.1016/j.biortech.2013.01.087
- Ramalho, R. (1990). *Tratamiento de aguas residuales*. Reverte. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=30etGjzPXyWC&pgis=1>
- Reardon, K. F., Mosteller, D. C., & Bull Rogers, J. D. (2000). Biodegradation kinetics of benzene, toluene, and phenol as single and mixed substrates for *Pseudomonas putida* F1. *Biotechnology and Bioengineering*, 69(4), 385–400. doi:10.1002/1097-0290(20000820)69:4<385::AID-BIT5>3.0.CO;2-Q

- Reij, M. W., Keurentjes, J. T. F., & Hartmans, S. (1998). Membrane Bioreactors for waste gas treatment. *Journal of Biotechnology*, 59, 155–177.
- Revah, S., & Ortiz, I. (2004). *El Desarrollo de Bioprocesos para el tratamiento de Aire Contaminado Emirido por Fuentes Fijas*. (F. Bolivar, Ed.) *Fundamentos y Casos exitosos de la Biotecnología Moderna*. México D.F. Retrieved from <http://web.cua.uam.mx/docs/CNI/profesores/archivos/295.pdf>
- Rico, F. G. (2001). *Daños a la salud por contaminación atmosférica*. (UAEMEX, Ed.). UAEMEX. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=RBuVVI0yTq4C&pgis=1>
- Robledo-Ortíz, J. R., Ramírez-Arreola, D. E., Pérez-Fonseca, a. a., Gómez, C., González-Reynoso, O., Ramos-Quirarte, J., & González-Núñez, R. (2011). Benzene, toluene, and o-xylene degradation by free and immobilized *P. putida* F1 of postconsumer agave-fiber/polymer foamed composites. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65(3), 539–546. doi:10.1016/j.ibiod.2010.12.011
- Ruiz, M., Arriaga, J. L., & García, I. (1996). Determinación de Compuestos orgánicos volátiles en la atmósfera de la Ciudad de México mediante el uso de sistemas ópticos y métodos convencionales. *Atmósfera*, 9, 119–135.
- Schwartz, B. C. ., Devanny, J. S., & Tsotsis, T. T. (2001). A biofilter network model importance of the pore structure and other large-scale heterogeneities. *Chemical Engineering Science*, 56(2), 475–483.
- Shim, H., Hwang, B., Lee, S.-S., & Kong, S.-H. (2005). Kinetics of BTEX biodegradation by a coculture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* under hypoxic conditions. *Biodegradation*, 16(4), 319–327. doi:10.1007/s10532-004-1842-6
- Smith, R. K. (1990). The biodegradation of aromatic hydrocarbons by bacteria. *Biodegradation*, 1, 191–206.
- Song, J., Shin, S., Jang, H. S., & Hwang, S. J. (2012). Kinetics and simulations of substrate interactions during the biodegradation of benzene, toluene, p-xylene and

styrene. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 47(7), 1027–1035. doi:Doi 10.1080/10934529.2012.667320

Stellman, J., & McCann, M. (1999). Propiedades de los Hidrocarburos Aromáticos. In Chantal Dufresne BA (Ed.), *Enciclopedia de Salud y Seguridad ...* (Española, pp. 282–295). Madrid: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:ENCICLOPEDIA+D+E+SALUD+Y+SEGURIDAD+EN+EL+TRABAJO#1>

Trejo, G. (2001). *Caracterización de un Biorreactor de Lecho Ecurrido para la degradación de metanol durante un período largo de operación*. Universidad Autonoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Trigueros, D. E. G., Módenes, A. N., Kroumov, A. D., & Espinoza-qui, F. R. (2010). Modeling of biodegradation process of BTEX compounds: Kinetic parameters estimation by using Particle Swarm Global Optimizer, 45, 1355–1361. doi:10.1016/j.procbio.2010.05.007

Vayenas, D. V., Michalopoulou, E., Constantinides, G. N., Pavlou, S., & Payatakes, A. C. (2002). Visualization experiments of biodegradation in porous media and calculation of the biodegradation rate. *Advances in Water Resources*, 25(2), 203–219. doi:10.1016/S0309-1708(01)00023-9

Wang, X., & Deshusses, M. A. (2007). Biotreatment of groundwater contaminated with MTBE: Interaction of common environmental co-contaminants. *Biodegradation*, 18(1), 37–50. doi:10.1007/s10532-005-9034-6

Wang, X., Wang, Q., Li, S., & Li, W. (2015). Degradation pathway and kinetic analysis for p-xylene removal by a novel *Pandoraea* sp. strain WL1 and its application in a biotrickling filter. *Journal of Hazardous Materials*, 288, 17–24. doi:10.1016/j.jhazmat.2015.02.019

-
- Wani, A. H., Branion, R. M. R., & Lau, A. K. (1997). Biofiltration: A promising and cost-effective control technology for Odors, VOCs and air toxics. *Journal of Environmental Science and Health . Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology*. doi:10.1080/10934529709376664
- Yeom, S.-H., Daugulis A.J, (2001). Benzene degradation in a two-phase partitioning bioreactor by *Alcaligenes xylosoxidans* Y234, *Process Biochemistry* 36 765–72. [http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592\(00\)00277-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00277-6).
- Yoon, H., Klinzing, G., & Blanch, H. W. (1977). Competition for mixed substrates by microbial populations. *Biotechnology and Bioengineering*, 19(8), 1193–1210. doi:10.1002/bit.260190809
- You, Y., Shim, J., Cho, C. H., Ryu, M. H., Shea, P. J., Kamala-Kannan, S., ... Oh, B. T. (2013). Biodegradation of BTEX mixture by *Pseudomonas putida* YNS1 isolated from oil-contaminated soil. *Journal of Basic Microbiology*, 53(5), 469–475. doi:10.1002/jobm.201200067
- Zagal, E., & Sadzawka, A. (2007). *Protocolo De Métodos de Análisis Para Suelos y Lodos*. Chillán.
- Zamora, G. (2009). *Optimizacion De La Operacion De Un Reactor Aerobico De Biopelícula Bacteriana Inmovilizada: Incidencia De Los Nutrientes En La Biosintesis De Polihidroxialcanoato (Pha) Como Producto Del Tratamiento De Efluentes De Celulosa Kraft*. Universidad De Concepcion.